

WANDLUNGEN DER FEINSTRUKTUREN WÄHREND
DER FURCHUNG UND DER FRÜHEN
EMBRYONALANLAGE BEIM KANINCHEN

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg/Lahn

vorgelegt von

NORBERT PAUL
aus Erfurtshausen

Marburg/Lahn 1976

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg

WANDLUNGEN DER FEINSTRUKTUREN WÄHREND
DER FURCHUNG UND DER FRÜHEN
EMBRYONALANLAGE BEIM KANINCHEN

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg/Lahn

vorgelegt von

NORBERT PAUL

aus Erfurtshausen

Marburg/Lahn 1976

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg



Von der Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Philipps-Universität Marburg/Lahn als

Dissertation angenommen am 18.6.76

Tag der mündlichen Prüfung am 29.6.76

Berichterstatter: Prof. Dr. F. Seidel

Mitberichterstatter: Prof. Dr. K.A. Seitz

Für Marlies und Christoph

1. Einleitung	1
2. Die Geschichte der Familie	2
3. Die Geschichte der Stadt	3
4. Die Geschichte der Kirche	4
5. Die Geschichte der Schule	5
6. Die Geschichte der Familie	6
7. Die Geschichte der Stadt	7
8. Die Geschichte der Kirche	8
9. Die Geschichte der Schule	9
10. Die Geschichte der Familie	10
11. Die Geschichte der Stadt	11
12. Die Geschichte der Kirche	12
13. Die Geschichte der Schule	13
14. Die Geschichte der Familie	14
15. Die Geschichte der Stadt	15
16. Die Geschichte der Kirche	16
17. Die Geschichte der Schule	17
18. Die Geschichte der Familie	18
19. Die Geschichte der Stadt	19
20. Die Geschichte der Kirche	20
21. Die Geschichte der Schule	21
22. Die Geschichte der Familie	22
23. Die Geschichte der Stadt	23
24. Die Geschichte der Kirche	24
25. Die Geschichte der Schule	25
26. Die Geschichte der Familie	26
27. Die Geschichte der Stadt	27
28. Die Geschichte der Kirche	28
29. Die Geschichte der Schule	29
30. Die Geschichte der Familie	30
31. Die Geschichte der Stadt	31
32. Die Geschichte der Kirche	32
33. Die Geschichte der Schule	33
34. Die Geschichte der Familie	34
35. Die Geschichte der Stadt	35
36. Die Geschichte der Kirche	36
37. Die Geschichte der Schule	37
38. Die Geschichte der Familie	38
39. Die Geschichte der Stadt	39
40. Die Geschichte der Kirche	40
41. Die Geschichte der Schule	41
42. Die Geschichte der Familie	42
43. Die Geschichte der Stadt	43
44. Die Geschichte der Kirche	44
45. Die Geschichte der Schule	45
46. Die Geschichte der Familie	46
47. Die Geschichte der Stadt	47
48. Die Geschichte der Kirche	48
49. Die Geschichte der Schule	49
50. Die Geschichte der Familie	50
51. Die Geschichte der Stadt	51
52. Die Geschichte der Kirche	52
53. Die Geschichte der Schule	53
54. Die Geschichte der Familie	54
55. Die Geschichte der Stadt	55
56. Die Geschichte der Kirche	56
57. Die Geschichte der Schule	57
58. Die Geschichte der Familie	58
59. Die Geschichte der Stadt	59
60. Die Geschichte der Kirche	60
61. Die Geschichte der Schule	61
62. Die Geschichte der Familie	62
63. Die Geschichte der Stadt	63
64. Die Geschichte der Kirche	64
65. Die Geschichte der Schule	65
66. Die Geschichte der Familie	66
67. Die Geschichte der Stadt	67
68. Die Geschichte der Kirche	68
69. Die Geschichte der Schule	69
70. Die Geschichte der Familie	70
71. Die Geschichte der Stadt	71
72. Die Geschichte der Kirche	72
73. Die Geschichte der Schule	73
74. Die Geschichte der Familie	74
75. Die Geschichte der Stadt	75
76. Die Geschichte der Kirche	76
77. Die Geschichte der Schule	77
78. Die Geschichte der Familie	78
79. Die Geschichte der Stadt	79
80. Die Geschichte der Kirche	80
81. Die Geschichte der Schule	81
82. Die Geschichte der Familie	82
83. Die Geschichte der Stadt	83
84. Die Geschichte der Kirche	84
85. Die Geschichte der Schule	85
86. Die Geschichte der Familie	86
87. Die Geschichte der Stadt	87
88. Die Geschichte der Kirche	88
89. Die Geschichte der Schule	89
90. Die Geschichte der Familie	90
91. Die Geschichte der Stadt	91
92. Die Geschichte der Kirche	92
93. Die Geschichte der Schule	93
94. Die Geschichte der Familie	94
95. Die Geschichte der Stadt	95
96. Die Geschichte der Kirche	96
97. Die Geschichte der Schule	97
98. Die Geschichte der Familie	98
99. Die Geschichte der Stadt	99
100. Die Geschichte der Kirche	100

Inhalt

	Seite
I. Einleitung	1
II. Übersicht über die Entstehung und Entwicklung des Kanincheneies bis zur Bildung des Embryonalknotens (82 h p.c.)	4
III. Material und Methoden	6
IV. Untersuchungen am Kaninchenkeim im frühen Morulastadium	12
1. Äußere Blastomeren	12
a) Plasmalemm	12
b) Kern	13
c) Grundzytoplasma	27
d) Endoplasmatisches Retikulum	35
e) Gefensterte Membranen	35
f) Golgi-Apparat	36
g) Lysosomen	37
h) Mitochondrien	44
i) Ribosomen	45
2. Innere Blastomeren	51
3. Ergebnisse aus Kapitel IV	51
V. Untersuchungen an Kaninchenkeimen in einem späteren Morulastadium 58 h p.c.	57
1. Äußere Blastomeren	58
a) Plasmalemm	58
b) Kern	61
c) Endoplasmatisches Retikulum	67
d) Golgi-Apparat	67
e) Lysosomen	72
f) Mitochondrien	73
g) Ribosomen	73
2. Innere Blastomeren	77
3. Ergebnisse aus Kapitel V	78

VI. Untersuchungen an Kaninchenkeimen im Stadium der frühen Blastozyste 72 h p.c.	85
1. Trophoblastzellen	86
a) Plasmalemm	86
b) Kern	87
c) Endoplasmatisches Retikulum	91
d) Golgi-Apparat	102
e) Lysosomen	103
f) Mitochondrien	103
g) Ribosomen	112
2. Embryoblastzellen	113
3. Ergebnisse des Kapitel VI	117
VII. Untersuchungen an Kaninchenblastozysten im Stadium der Keimblase mit abgerundetem Em- bryonalknoten (82 h p.c.)	120
1. Trophoblastzellen	128
a) Plasmalemm	128
b) Kern	129
c) Grundplasma	130
d) Endoplasmatisches Retikulum	131
e) Golgi-Apparat	131
f) Lysosomen	134
g) Mitochondrien	134
h) Ribosomen	135
2. Embryoblastzellen	135
3. Ergebnisse des Kapitel VII	144
VIII. Literatur	150

" Wandlungen der Feinstrukturen während der
Furchung und der frühen Embryonalanlage
beim Kaninchen. "

I. Einleitung

Durch die schnelle technische Weiterentwicklung des Transmissions-Elektronenmikroskopes, konnten sich unsere Kenntnisse über die Zusammenhänge von Struktur und Funktion biologischer Systeme beträchtlich erweitern.

Da alle Lebensfunktionen letztlich Ausdruck biochemischer Reaktionen sind, die an bestimmten Strukturen ablaufen, richtet sich unser Interesse zunächst einmal auf eine genaue Kenntnis der Struktur lebender Systeme. Von ihrer Anordnung in Mustern und ihren Kombinationen lassen sich Rückschlüsse auf die Funktion ziehen.

Vollzieht sich dabei in Zellsystemen der Embryonalentwicklung durch Um- oder Neuformung bestimmter Zellorganellen ein Formwandel so kann dieser Ausdruck einer beginnenden Differenzierung sein. Unter diesem Aspekt sind die folgenden Untersuchungen zu sehen. Sie geben eine genaue Darstellung der Strukturen, ihrer Zusammenordnung und ihres Formwechsels in der frühen Embryonalentwicklung des Kaninchenkeimes zum Gegenstand.

Neben den Organellen, die in jeder intakten Zelle vorkommen, gibt es im Säuger-Ei Regionen mit besonderen Organellenkombinationen, die bestimmenden Einfluß auf die Keimesentwicklung nehmen. So hat SEIDEL (1956) nachgewiesen, daß die Bildung einer Embryonalanlage gebunden ist an das Vorhandensein eines Keimbezirks mit einem besonderen Faktorenbereich im Zweizellenstadium. Befunde von DALCQ (1951), A. JONES-SEATON (1950),

DEGEETER (1954) und DENKER (1970), die mit histochemischen Methoden die Verteilung der meta-chromatisch reagierenden Substanzen im EI untersuchten, trugen zur Ausdeutung dieser entwicklungsphysiologischen Feststellung bei. Auf elektronenmikroskopischer Ebene vervollständigte Christina KRAUSKOPF (1967) mit dem Nachweis einer basophilen Randzone im 2-Zellenstadium des Kanincheneies das Bild, das man sich über Struktur und Funktion des von SEIDEL gefundenen "Bildungszentrums" machen kann.

Außer Chr. KRAUSKOPF (1968 a, b) haben sich eine große Zahl von Autoren in EM-Untersuchungen mit dem feinstrukturellen Aufbau und den ständigen Veränderungen beschäftigt, denen Kern und Ooplasma in Säugetiereiern während der Oogenese, der Befruchtungsvorgänge, der Furchung und der weiteren Entwicklung unterliegen.

Am Ei des Menschen arbeiteten: WARTENBERG und STEGNER (1960), STEGNER u. WARTENBERG (1961), ZAMBONI et al. (1966), BAKER u. FRANCHI (1967), BACA u. ZAMBONI (1967), HERTIG u. ADAMS (1967), HERTIG (1968), MASTROIANNI u. NORIEGA (1970), FRIEDRICH et al. (1971) und ZAMBONI et al. (1966; 1972); Eier der Säugetiere untersuchten am Beispiel von Meerschweinchen: ADAMS u. HERTIG (1964; 1965), Ratte: SOTELLO (1959), SOTELLO u. PORTER (1959), FRANCHI (1960), ODOR (1960), SZOLLOSI u. RIS (1961), IZQUIERDO u. VIAL (1962), SZOLLOSI (1965), MERKER u. KOEHLER (1967), ENDERS u. SCHLAFKE (1967 a, b), Goldhamster: WEAKLEY (1966; 1969), Affe: BAKER u. FRANCHI (1972), Maus: HILLEMANN (1967), STEFANINI et al. (1969) und ZAMBONI et al. (1972) und schließlich Kaninchen: BLANCHETTE (1961), MERKER (1961), HADEK (1963), ZAMBONI u. MASTROIANNI (1966 a, b), LOMGO u. ANDERSON (1969), STEER (1970 a, b; 1971), MERCHANT (1970) und HESSELD AHL (1971).

Die in dieser Arbeit vorliegenden Untersuchungen umfassen die Zeitspanne vom frühen Morulastadium bis zur Bildung der Blastozyste mit Embryonal-knoten.

Die Auswahl von vier verschiedenen Entwicklungszeiten post coitum 45 h p.c., 58 h p.c., 72 h p.c. und 80-82 h p.c. soll die Möglichkeit geben, die Strukturveränderungen während der Frühentwicklung darzustellen und sie mit den grundlegenden Ergebnissen von Chr. KRAUSKOPF (1967) über die Oozyte und die beiden ersten Furchungsblastomeren zu vergleichen.

Für die Anregung zur vorliegenden Arbeit, für seine große Hilfsbereitschaft und das stete Interesse bei ihrer Durchführung danke ich sehr meinem verehrten Lehrer Herrn Prof. Dr. F. Seidel.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft bin ich für die Bereitstellung von Mitteln zu Dank verpflichtet.

Ebenso möchte ich Herrn Prof. Dr. W. Vogell, dem Direktor des Institutes für Physikalische Biologie und Elektronenmikroskopie der Universität Marburg, sowie dessen Nachfolger Herrn Prof. Dr. W. Thoenes, Direktor des Institutes für Cytobiologie und Cytopathologie, für das Überlassen eines Arbeitsplatzes und der excellenten methodischen Betreuung in ihren Instituten Dank sagen.

II Übersicht über die Entstehung und
Entwicklung des Kanincheneies bis
zur Bildung des Embryonalknotens
(82 h p.c.)

Zur Kennzeichnung der unterschiedlichen Entwicklungsstadien soll im folgenden kurz die normale Entwicklung des Kanincheneies beschrieben werden. Es sei unterschieden zwischen der Pro-ontogenese und der Ontogenese. Erstere umfaßt den Zeitraum von der Ausbildung der Geschlechtszellen bis zur Befruchtung des ovulierten Kanincheneies. Letztere beginnt mit der Ovulation.

Bei der Ovulation, die durch die Begattung ausgelöst wird und etwa $10 \frac{1}{2}$ h p.c. eintritt, platzt der reife Follikel nach außen hin auf. Mit der Follikelflüssigkeit quillt die Oozyte samt anhängenden Zellen der Corona radiata und des Cumulus oophorus aus der Follikelhöhle heraus. Wie direkte Beobachtungen durch Laparotomie und Culdoscopie (HUMPHREY 1969) zeigen, wird das ovulierte Ei von den Fimbrien des Ostium tubae in einer streichenden Bewegung aktiv aufgenommen (vergleiche auch BLANDAU 1967). Den weiteren Transport von den Fimbrien in den ampullären Teil des Eileiters besorgen die Zilien der Oviduktzellen (BLANDAU 1961). In der Ampulla wird durch sekretorisch besonders aktive Zellen eine Flüssigkeit gebildet, die ein natürliches Medium für die Penetrationsbefähigung (capacitation) der Spermien darstellt. Die Ampulla ist der Raum in dem die Oozyten die Corona radiata verlieren, in dem die Besamung stattfindet, die zweite Reifungsteilung eintritt und die Furchung des Keimes beginnt. Nach der Normentafel, die SEIDEL (1960) für das Kaninchen aufgestellt hat, kann man nach 25 Stunden p.c. aus diesem Teil des Oviduktes Eier

im 2-Zellenstadium entnehmen.

Zusätzlich zur Zona pellucida werden die Keime auf ihrem Weg durch den Eileiter von einer Mucoproteidschicht umgeben. Sie erreicht 45 h p.c. ihre maximale Stärke. Die Eier befinden sich im Morula-Stadium und können zu diesem Zeitpunkt etwa aus dem mittleren Teil des Oviduktes entnommen werden. Nach drei Tagen (72 h p.c.) gelangen sie in den Uterus. Die Furchungskugel hat sich zu einer frühen Blastozyste umgebildet, die etwa 10 Stunden später einen runden, kugeligen Embryonalknoten umgibt.

III Material und Methoden

Der Gewinnung von Keimmaterial für diese Arbeit liegt die Normentafel nach SEIDEL (1960) zugrunde. Danach wurden Keime im 16-Zellenstadium (frühe Morula) nach 45 h p.c. am Beginn des unteren Eileiterdrittels, nach 58 h p.c. (späte Morula) aus der Mitte des unteren Drittels, im frühen Blastulastadium, nach 72 h Entwicklungszeit, aus dem Endabschnitt des unteren Eileiterdrittels oder aus dem oberen Uterus und die Keimblase mit einem runden, kugeligen Embryonalknoten nach 80-82 h p.c. dem oberen Uterus entnommen.

Die Spendertiere gehörten vorwiegend zu den Kaninchenrassen Klein Chinchilla und Alaska und stammten ausnahmslos aus den Zuchten des Zoologischen Institutes der Universität Marburg.

Zur Gewinnung des Untersuchungsmaterials wurden unmittelbar nach der Tötung der Tiere die Ovarien mit den anhängenden Eileitern und den oberen Teilen der Uteri excediert. Nach der von SEIDEL (1960) beschriebenen Technik erfolgte in einer mit Ringerlösung feucht gehaltenen und auf Körpertemperatur erwärmten Petrischale die weitere Präparation: Zunächst entfernte ich die Ovarien, deren kurze Musterung nach gesprungenen Follikeln schon eine ungefähre Zahl der zu erwartenden Keime angab. Dann befreite ich die Eileiter von anhängenden Fettgeweben, Mesenterien und, bei Gewinnung von Morulastadien, auch von den Uteruskappen. Wegen ihrer Länge wurden die Eileiter in der Mitte zwischen Pars ampullaris tubae und Pars uterina getrennt. Dann führte ich in die beiden Eileiterhälften jeweils von der Ansatzstelle des Ovariums beziehungsweise vom Uterus her die stumpf geschliffene Kanüle mit dem äußeren Durchmesser von 0,8 mm in das Lumen des Eileiters ein und befestigte sie mit einer Péanschen Klemme. Während das offene Ende der Eileiterhälfte

über einem Blockschälchen hing, wurden zuerst langsam, dann mit zunehmendem Druck etwa 2 ml Spülflüssigkeit aus der Spritze durch den Eileiter und damit auch die Keime in das Auffangschälchen gespült. Als vorteilhaft haben sich die Blockschälchen erwiesen, denn von ihrem konkavem Boden kann man die sedimentierten Keime, besonders gegen dunklen Untergrund, bei Lupenvergrößerung leicht in einer feinen Pipette mit möglichst wenig Flüssigkeit in die vorbereitete Fixierlösung übertragen. Auf diese Weise wurden von insgesamt 30 Tieren aus den Eileitern 115 Eier und aus den oberen Teilen der Uteri 28 Keime gewonnen. Als Durchspülflüssigkeit benutzte ich anfangs die von SEIDEL (1960) angegebene Salzlösung. Später habe ich, um die Keime nicht vorher mit Fremdlösungen in Berührung zu bringen, die Keime mit der Fixierlösung aus Eileiter und Uterus herausgespült.

Fixierung

Bei der Anwendung der Fixierlösung als Durchspülflüssigkeit fand ein weiteres Kriterium Beachtung; die Annäherung an die Intravitalfixation. Sieht man ab von der kurzen Präparationszeit der Eileiter, d.h. von dem Moment der fehlenden Durchblutung durch den Tod des Muttertieres bis zum Kontakt der Keime mit dem Fixans, einem Zeitraum, in dem postmortale Schädigungen für den Keim nicht zu befürchten sind, kann man diese Methode der Fixierung als intravital bezeichnen. Wenn auch das die Keime enthaltende Organ von seinem Lumen aus gleichzeitig fixiert wird, zeigen die viel empfindlicheren Epithelien schon erhebliche hypoxische Schäden (WARNING, persönliche Mitteilung).

Zur Fixierung der Keime wurden folgende Lösungen verwendet:

- 1.) 1% O_8O_4 - Fixierlösung (PALLADE 1952) in 0,1 M Veronal-Na-Natriumacetatpuffer pH 7,2 (ohne Sucrose!) (CAULFIELD 1957) später in 0,1 M Phosphatpuffer (MILLONIG 1961) oder in 0,1 M Cacodylatpuffer (WOOD a. LUFT 1965)
- 2.) 3 - 4% Glutaraldehydlösung (SABATINI et al. 1963) in 0,1 M Phosphatpuffer pH 7,2 oder in 0,1 M Cacodylatpuffer pH 7,2
- 3.) 1% Formaldehyd - 2,5% Glutaraldehyd (KARNOWSKY 1965) in 0,1 M Cacodylatpuffer mit einem Zusatz von 0,025% $CaCl_2$ zur Stabilisierung der Membranen

Der Fixierung in Glutaraldehyd oder Formaldehyd-Glutaraldehyd folgte nach gründlichem Auswaschen in den entsprechenden Pufferlösungen in der Regel eine Nachfixierung in 1% O_8O_4 -Lösung.

Bei der Ermittlung der optimalen Fixierzeit wurde in einer Versuchsreihe von 15 Minuten bis 2 Stunden eine für Keime gut geeignete Zeit von 30 - 60 Minuten gefunden.

Die Entwässerung der Präparate erfolgte in aufsteigender Aceton- oder Alkoholreihe je nach Einbettungs-

material.

Anfangs wurden 5 Keime über die aufsteigende Alkoholreihe in Metacrylat eingebettet (NEWMAN et al. 1959).

Diese Art der Einbettung wurde bald ersetzt durch die Vestopal-Einbettung (RYTER a. KELLENBERGER 1958). Für diese Polyestereinbettung wurden 85 Keime in der aufsteigenden Acetonreihe entwässert.

Alle übrigen Keime sind über die Alkoholreihe der heute überwiegend gebräuchlichen Eponeinbettung (STEIN u. STEIN 1967) zugeführt worden.

Die Polymerisation der Kunststoffblöckchen geschah bei 65° im Brutschrank über 3 Tage.

Geschnitten wurden die polymerisierten Blöckchen anfangs mit einem Mikrotom, das nach dem Entwurf von Prof. Dr. W. VOGELL für das Laboratorium für Elektronenmikroskopie der Philipps-Universität angefertigt worden war.

Semidünnschnitte von etwa 1 - 3 um Dicke dienten zur Kontrolle der Dünnschnitte und zur Orientierung im Blöckchen. Sie wurden für die lichtmikroskopische Beobachtung gefärbt mit:

1. Toluidinblau a.) Vestopal- u. Methacrylat-schnitte nach TRUMP et al. (1961)

- b.) Eponschnitte nach LYNN (1965)

2. Giemsa-Färbung nach THOENES (1959, 1960)

Diese Färbung ist für alle Kunststoffschnitte brauchbar.

3. Methylenblau B, polychrome nach UNNA (MERCK)

Auch diese Färbung konnte mit Erfolg angewendet werden.

Für die Em-Beobachtung können nur Präparat-Dünnschnitte herangezogen werden. Zur Herstellung solcher Schnitte, die in einem Dickenbereich von 1500 bis 100 Å liegen, stand anfangs das oben erwähnte Ultramikrotom nach VOGELL, später das der Firma REICHERT zur Verfügung, das in vielen manuellen Handhabungen technisiert und

automatisiert war. Beide Ultramikrotome basieren auf dem Prinzip des thermischen Vorschubs. Damit ist es technisch möglich, Schnitte von 500 - 600 Å (Interferenzfarbe silber bis hellgrau) herauszustellen.

Als Schnittwerkzeug habe ich vorwiegend Glasmesser benutzt, die in den Anfängen noch mit einer Flachzange von Hand, später mit dem LKB 7800 Knife Maker leicht aus Glasstreifen selbst angefertigt wurden. Für schlecht schneidbare Präparate, die bei der Polymerisation zu weich oder zu hart geworden waren, fanden auch Diamantmesser von der Firma DIATOME AG (Schweiz) Verwendung.

Die silbergrauen Dünnschnitte schwimmen nach dem Schneidevorgang in einem zusammenhängenden Schnittband oder in kleinen irregulären Gruppen auf der Wasseroberfläche des kleinen Troges, der am Messer befestigt ist. Sie fischte ich auf mit Objektträgernetzen welche vorher mit einer Trägerfolie (Mowital- oder Formvarfolie) überspannt worden waren, von der Oberfläche her durch Auftippen. Durch die Berührung des Netzchens mit den Dünnschnitten haften diese an der Trägerfolie und konnten auf diese Weise leicht auf die Objektträger gebracht werden. Die so aufgefundenen Dünnschnitte zeigten im Elektronenmikroskop bei der Durchmusterung jedoch recht viele Falten. Um diese Faltenbildung auszuschließen, wurden die Schnitte mit einer Öse aus dünnem Metalldraht (Eisen, Edelstahl, Silber, Gold oder Kupfer mit einem Durchmesser von 0,1 - 0,3 mm), von der Wasseroberfläche auf einem kleinen Wassertropfen schwimmend aufgenommen. Die Öse hat ein kurzes Stielchen und kann mit einer Uhrmacher-Pinzette bewegt werden. Die Öse wurde mit Wassertropfen und den darauf schwimmenden Schnitten auf das vorbereitete Objektträgernetzchen abgesetzt, sodaß sich nach Verdunsten des Wassers

die Schnitte faltenlos auf die Folie aufzogen. Diese Auffangmethode hat sich bis heute in unserem Institut bewährt.

Der Kontrast ist im Gewebeschnitt nach der üblichen Fixierung meistens für eine elektronenmikroskopische Beobachtung nicht ausreichend. Eine gezielte Steigerung der Strukturdichte kann mit dem Nachkontrastieren erreicht werden. Dazu eignen sich hauptsächlich schwermetallhaltige Verbindungen.

Die Ultradünnschnitte von Kaninchenkeimen wurden in einer Lösung von

- 1.) Bleihydroxyd (nach WATSON 1958)
- 2.) Bleihydroxyd nach KARNOVSKY (1961)
- 3.) Bleizitrat nach REYNOLDS (1963) und
- 4.) als Doppelkontrastierung zuerst mit Uranylacetat nach WATSON (1958) und anschließend mit Bleizitrat nach REYNOLDS (1963) kontrastiert.

Die so nachkontrastierten Dünnschnitte habe ich ausnahmslos im ELMISKOP I von SIEMENS beobachtet. An diesem Gerät entstanden auch alle Aufnahmen bei einer Originalvergrößerung von 4600 : 1 für Übersichtsaufnahmen oder ganze Schnittmontagen.

Für Strukturanalysen machte ich EM-Aufnahmen von 20 - 40 000 facher Vergrößerung. Das verwendete Negativmaterial ist der sehr feinkörnige Scientia-Film 23 D 56, 6,5 x 9 cm von AGFA-GEVAERT. Alle Bildkopien und -vergrößerungen wurden am FOCOMAT II c von LEITZ hergestellt.

IV Untersuchungen am Kaninchenkeim im frühen Morulastadium

45 Stunden nach der Begattung (p.c.) eines Kaninchens, 36 Stunden nach der Besamung des Eies, ist durch Furchung eine Morula von etwa 16 Zellen entstanden. Das Ovum mit Mucoproteidschicht und Zona pellucida hat einen Durchmesser von 280 μm , das nackte Ei mißt 120 μm (SEIDEL, 1963; Normentafel; Zeile 11).

Auf Dünnschnitten, die durch den mittleren Bereich des Keimes gehen, sind bis zu 9 Blastomeren zu sehen. Dabei werden 1 - 2 nach innen verlagerte Zellen erstmals von den sie umgebenden äußeren ganz eingeschlossen. Da diesem Vorgang nach SEIDEL (1960) eine gewisse Bedeutung für die weitere Differenzierung in Keimblase und Keimscheibe zugetragen werden kann, habe ich dieses Stadium als Ausgangspunkt für vergleichende feinstrukturelle Untersuchungen gewählt.

1. Äußere Blastomeren

Die äußeren Blastomeren liegen der Zona pellucida (ZP), dicht an. Die Zellen sind abgeflacht; ihr Längen-Breite-Verhältnis beträgt 2-2,5 : 1. Sie werden rundum von einer soliden Hüllmembran, dem Plasmalemm (Zytolemm) umgeben.

a) Plasmalemm

Die vielfachen Differenzierungen, die die Blastomeren an ihrer Oberfläche bilden, sind sämtlich von Plasmalemm begrenzt: Vereinzelte kurze nach außen gerichtete mikrovilliähnliche Vorstülpungen (Abb. 1a MV), Gruppen von Bläschen verschiedener Größe (Abb. 1 b). Im übrigen tragen sie auf weite Strecken besonders gegenüber der Zona eine relativ glatte Oberfläche (Abb. 1 c). Der oft zwischen Blastomere und Zona pellucida erscheinende sog. perivitelline Spalt (PVR) ist meines

Erachtens in vivo nicht vorhanden. Er tritt als Kunstprodukt auf und ist auch bei optimalen EM-Einbettungen nicht zu sehen.

In das Zytoplasma hinein werden zahlreiche Mikro-pinocytosevesikel (MPV) vom Plasmalemm aus abgeschnürt. Sie entstehen auf der gesamten Blastomeren-Oberfläche ringsum etwa in gleicher Aktivität und dringen weit in die Zelle hinein (Abb. 1 b). An der Oberflächenmembran bildet sich zunächst eine leichte Verdickung an der eine Invagination mit hellem Inhalt erfolgt. Das so entstandene Pinocytosebläschen sinkt oft tief in das Zellplasma ab (Abb. 1 d, vgl. FAWCETT 1966).

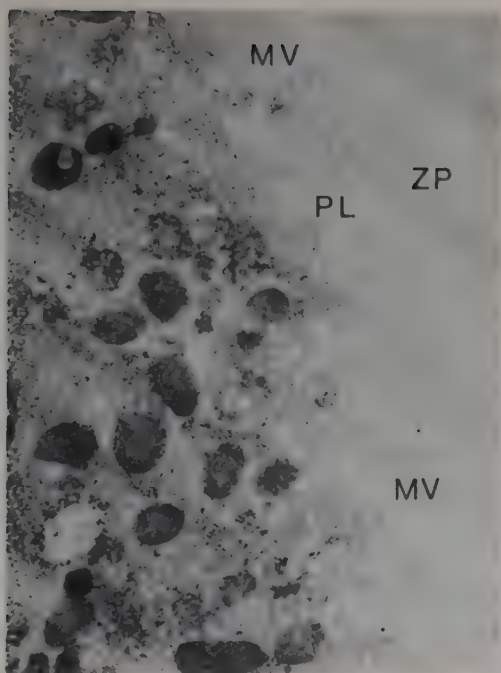
Der Kontakt der äußeren Blastomeren untereinander ist eng: Auf weite Strecken sind die Zellmembranen fingerförmig ineinander verzahnt (Abb. 2 a). Teilweise laufen sie parallel und bilden in solchen Abschnitten desmosomale Komplexe (Abb. 2 b) oder gar festere Bindungen in der Art von Schlußleisten (Abb. 2 c). Den aktiven, schnellen Stoffaustausch zwischen den Blastomeren besorgen Mikropinocytosevesikel, die in den Plasmabezirken längs der Zellmembranen in einer Vielzahl zu sehen sind (Abb. 2b, 2c). Im gleichen Dienst stehen auch wohl die viel größeren mit unterschiedlich dichtem Inhalt gefüllten Vakuolen im Interzellularraum, der sich auf der Abbildung zu einer Lichtung ausweitert und möglicherweise die Tendenz zur Bildung einer Blastozystenöhlung schon andeutet (Abb. 2 b).

b) Kern

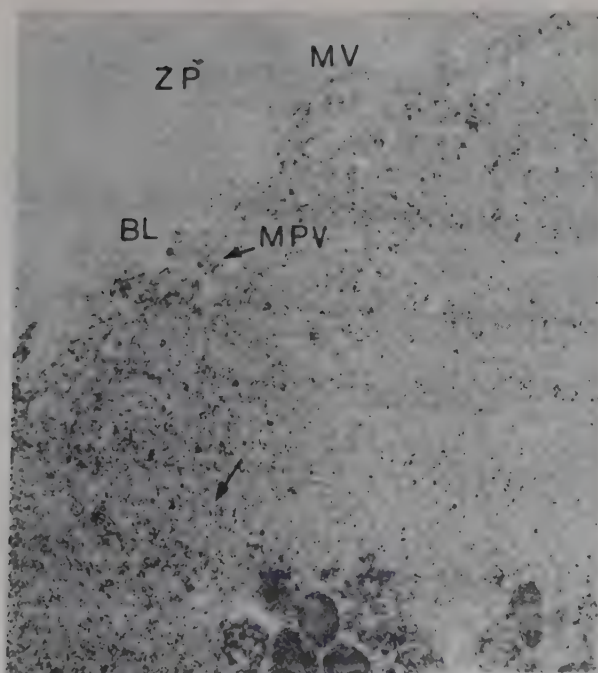
Angesichts der Bedeutung des Kerns als Träger der genetischen Information einer Zelle ist der Fortschritt, den der Bereich der Elektronenmikroskopie selbst mit den feinsten Untersuchungsmethoden der Karyologie gebracht hat, recht gering. Das hängt mit den besonderen methodischen Schwierigkeiten zusammen; denn mit jeder

Abb. 1 a Eine äußere Blastomere aus dem Morulastadium (16 Zellen) liegt der Zona pellucida (ZP) dicht an, ein "Perivitelliner Raum" ist nicht sichtbar. Vom Plasmalemm (PL) werden kurze Mikrovilli (MV) in die Zona pellucida vorgestülpt. Im Zytoplasma sind verschiedene Zellorganelle abgebildet. 1 h Osmium-Fix. Vestopaleinbettung, Vergr. 18 400 x

Abb 1 b Ausschnitt einer äußeren Blastomere aus dem 16 Zellenstadium. Das Plasmalemm (PL) sendet einen Mikrovillus (MV) und Gruppen kleiner Bläschen (BL) in die Zona pellucida (ZP). Im Zytoplasma dicht unter dem Plasmalemm mehrere Mikropinocytosevesikel (MPV), die tiefer in die Zelle einsinken (↗). Im unteren Bildteil verschiedene Zellorganellen. 1 h Osmium-Fix. Vestopal, Vergr. 18 400 x



1 a



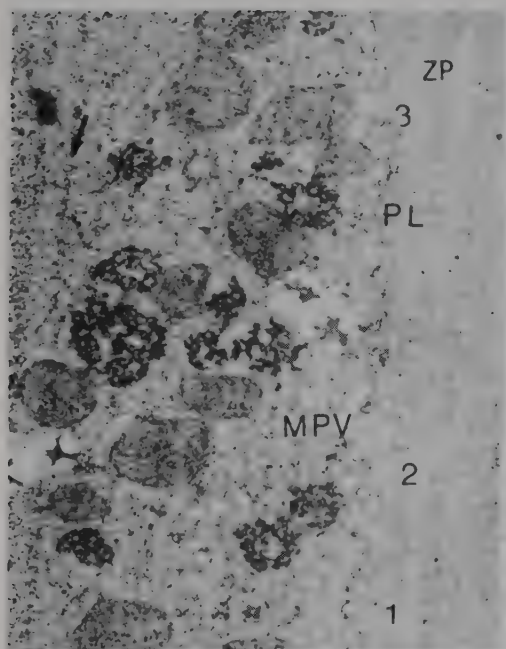
1 b

Abb. 1 c Teil einer äußeren Blastomere des 16 Zellen-Stadiums. Die Oberfläche (Plasmalemm (PL) liegt der Zona pellucida (ZP) über weite Strecken glatt an. Im Zytoplasma einige Zellorganelle. 1 h Osmium-Fix. Vestopal, Vergr. 18 400 x

Abb. 1 d Plasmalemm (PL) einer äußeren Morula-Blastomere (16 Zellen). Bildung von Mikropinocytosevesikel (MPV): Membranverdickung am Plasmalemm (1), Invagination mit verdickter Membran (2), von der Oberfläche zur Zona pellucida (ZP) abgeschnürte Mikropinocytosebläschen (3), vereinzelt auch noch tiefer in der Zelle sichtbar (↗). Im Zytoplasma einige Zellorganelle. 1 h Osmium-Fix. Vestopal, Vergr. 20 240 x



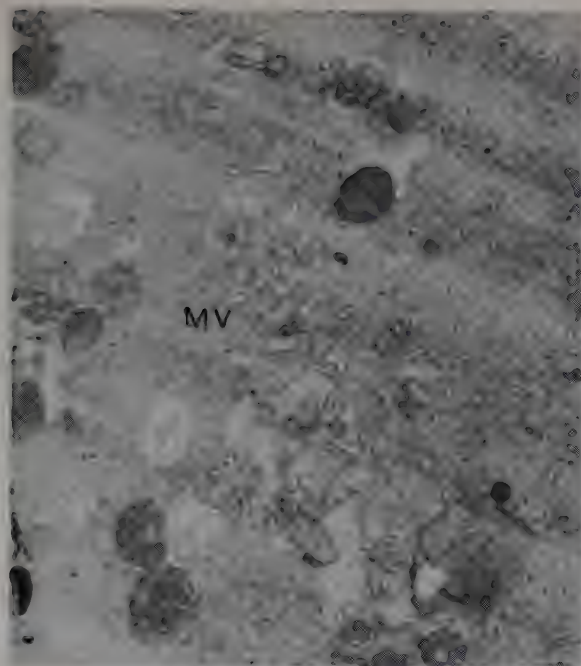
1 c



1 d

Abb. 2 a Ausschnitt aus zwei aneinandergrenzenden äußeren Blastomeren der Kaninchenmorula. Der Zellkontakt wird durch fingerförmige Verzahnung der beiden Zellmembranen auf weite Strecken vergrößert: Ausbildung von Mikrovilli (MV). Im Zytoplasma verschiedene Zellorganelle. 1 h Osmium-Fix. Vestopal, Vergr. 18 400 x

Abb 2 b Ausschnitt aus einer Kaninchenmorula-Blastomere. Der enge Zellkontakt ist durch desmosomale Komplexe (D) ausgebildet. An diesen Stellen hat sich durch Anlagerung von dichtem, fädigem Material an die Zellmembranen eine stabilere Bindung ausgebildet. Zytoplasma-Organelle und Ribosomenrosetten sind sichtbar. 1 h Osmium-Fix. Vestopal, Vergr. 18 400 x



2 a



2 b

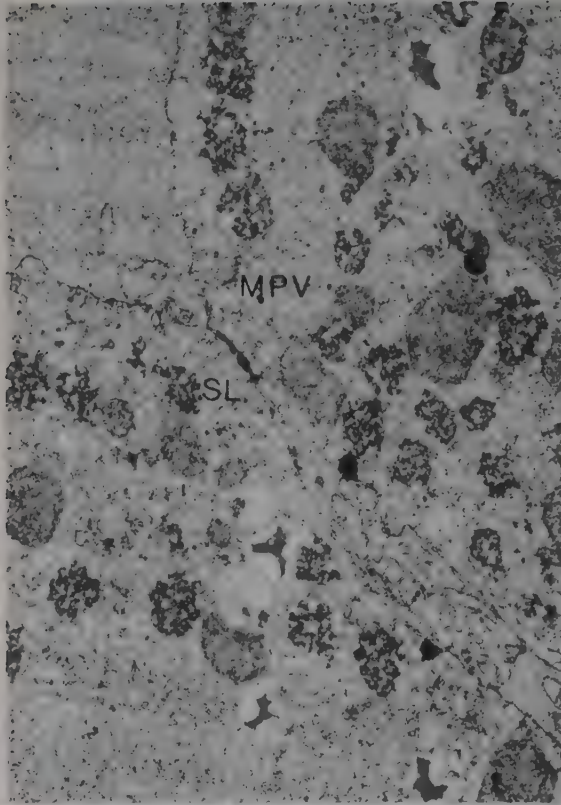


Abb. 2 c Ausschnitt aus Kaninchenmorula-Blastomeren. Zellkontakte in Form von Schlußleisten (SL) bedeuten eine Bindung auf längere Zeit. Sie stellt eine Barriere zur Kontrolle des dortigen Stoffaustausches mit dem Interzellularspalt dar. Zu beachten ist an der Schlußleiste die aktivierte Stoffaufnahme durch Mikropinocytosevesikel (MPV). Ansammlung von Zellorganellen im Zytoplasma.

1 h Osmium-Fix. Epon, Vergr. 20 000 x

Änderung des Fixierungsmittels sowie des Einbettungsmaterials sind auch die Darstellungen der Feinstruktur des Kerns verschieden. Zwar reagieren die Nukleinsäuren auf einige Kontrastierungsmittel spezifisch, so daß eine genaue Ortsangabe des Chromatins im Kern möglich ist, doch haben wir keine Zuverlässigkeitsprüfung für die elektronenmikroskopischen Bilder, die von Ultradünnschnitten stammen, zumal im Kerninneren begrenzende und ordnende Membranen fehlen. Unter Beachtung dieser Kriterien sind die folgenden Darstellungen und vergleichenden morphologischen Analysen aufzunehmen.

In der Morulablastomere nimmt der Kern stets eine zentrale Lage ein, oder er wird der abgeflachten Form der Zellen entsprechend ein wenig basalwärts verlagert. Er ist relativ groß und kann in sehr verschiedenen unregelmäßigen Formen erscheinen. Die Oberfläche ist überwiegend vielfach gelappt und eingebuchtet (Abb. 4 a). Tiefe Invaginationen durchschneiden fast den ganzen Kern, und oft sieht man auf Schnittbildern Zytoplasmaportionen mit Zellorganellen die ganz im Kernplasma eingeschlossen sind (Abb. 4 b), oder man findet die zerklüfteten Kernoberflächen in verschiedenen Ausschnitten.

Im lichtmikroskopischen Sprachgebrauch erfahren das Zytoplasma und der Kern durch die "Kernmembran" eine Trennung. Seit CALLAN und TOMLIN (1950) wurde auf vielen elektronenmikroskopischen Bildern dargestellt, daß die Kernhülle ein sehr kompliziertes Gebilde ist und die beiden Zellkompartimente Zytoplasma und Kern funktionell miteinander verbindet. Die Kernhülle besteht aus einem Membransack, dessen inneres Blatt in seinem molekularen Aufbau und strukturell sich erheblich von den sonstigen Membranen des Zytoplasmas unterscheidet (ANDRÉ a. ROUILLER, 1956; VIVIER, 1967; MOOR a. MÜHLETHALER, 1963) und Kernmembran genannt wird. Sie trägt an der Seite zum

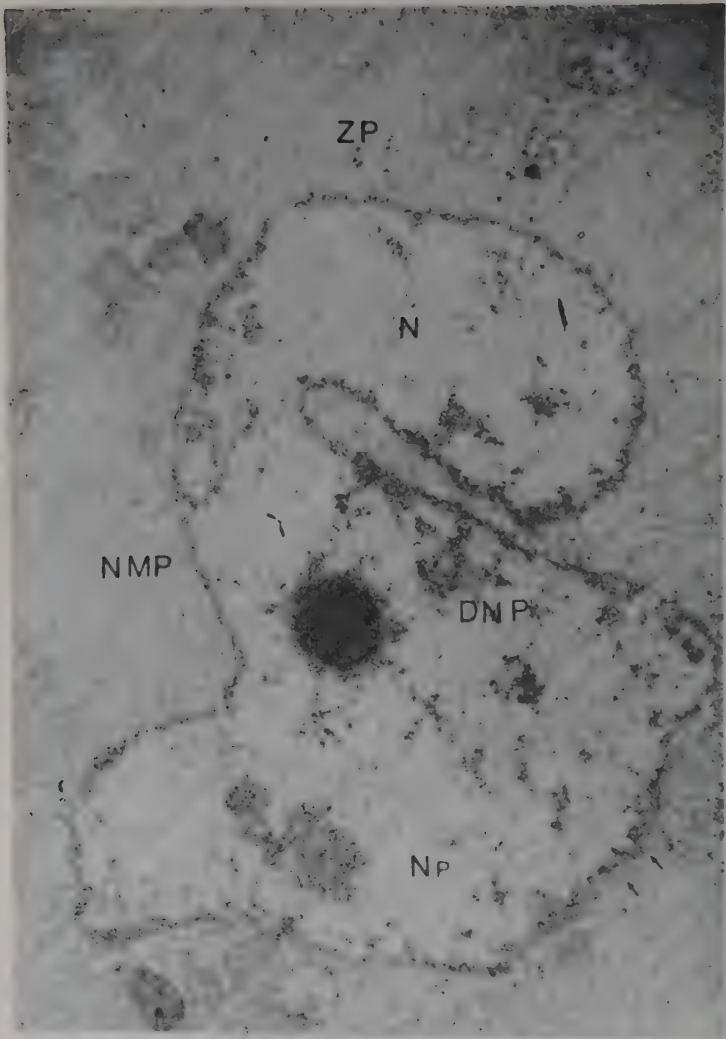


Abb. 4 a Übersichtsdarstellung des Zellkernes aus einer äußeren Blastomere der Kaninchenmorula. Mit dem Zytoplasma (ZP) wird der Zellkern (N) mit Kernplasma (NP), Nukleolus (NC) und Chromatinschollen (DNP) durch die Kernporen (NMP) der Kernhülle (NM) verbunden. Rechts unten: Kernhülle im Flachanschnitt. Poren (↗)
1 h Osmium-Fix. Vestopal, Vergr. ca. 20 000 x

Kernplasma die Lamina fibrosa nucleoli, die auf Bildern kaum sichtbar ist. Das äußere Blatt der Kernhülle rechnet man dem Endoplasmatischen Retikulum zu, da es mit diesem in Verbindung steht und mit Ribosomen besetzt ist (Abb. 4 b). Der Zwischenraum, die perinukleare Zisterne oder der perinukleare Spalt (POLICARD a. BESSIS, 1953; WATSON, 1959) bleibt im Verlauf der Kernperipherie in seiner Weite sehr variabel. Durch Abheben, Aufblähen und Aussacken der äußeren Hüllmembran können Blasen und spaltförmige Räume von unterschiedlicher Größe gebildet werden, die als optisch leer erscheinen, aber nach BAUD (1959) jeweils einen bestimmten physiologischen Status der Zelle demonstrieren.

Die Kontinuität des perinuklearen Raumes wird unterbrochen von den Kernporen (Abb. 4 a), die mit Hilfe eines sehr diffizilen Nukleoporenkomplexes (WATSON, 1959; FRANKE, 1970) den Stoffaustausch zwischen Kern und Zytoplasma regulieren. Auf Dünnschnitten durch die Kernhülle werden regelmäßig Profilanschnitte von Nukleoporen getroffen (Abb. 4 a 1). Es sind Areale mit einem Durchmesser von 600 Å (GALL, 1967), für welche einige weitere Einzelheiten auf Abb. 14 c, Seite 61, mitgeteilt werden. Das innere Blatt der Kernhülle scheint mit dem äußeren zu verschmelzen und überspannt als Diaphragma mit einer elektronendichten Verdickung in der Mitte die Porenöffnung. Dunkles, osmiophiles, fädiges Material ist auf ihren beiden Seiten außen und innen zu finden. Auf dem Flachschnitt durch die Kernhülle (Abb. 4 a) sind einige Kernporen in der Aufsicht getroffen. Hier sieht man den Rand aus osmiophilen ringähnlichen Verdichtungen, den Annulus (CALLAN a. TOMLIN, 1950; FRANKE, 1970; KRSTIC, 1976), und erkennt die elektronendichte Verdickung (des Diaphragmas) in der Mitte.

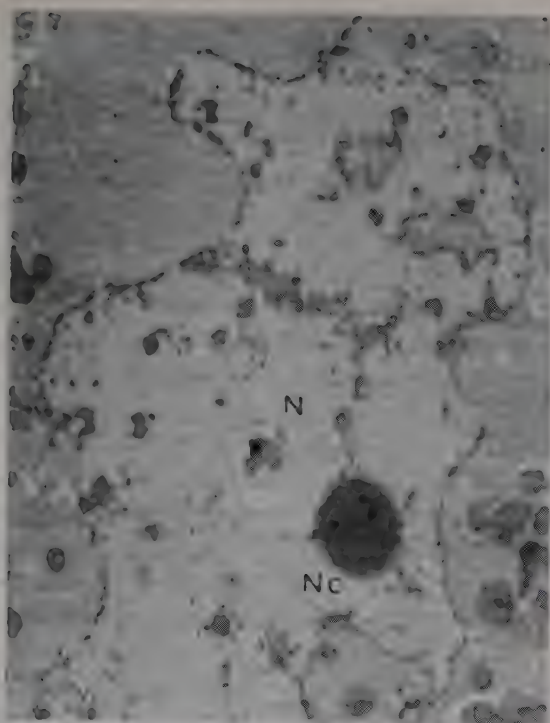
Da das Karyoplasma aus einem Protein-Gel besteht, das ähnliche Eigenschaften wie das Grundzytoplasma besitzt,

Abb. 4 b Ausschnitt aus einer äußeren Morulablastomere (16 Zellen) des Kaninchenkeimes, Zellkern(N). Diese Abbildung stellt den typischen Zellkern des Morulastadiums dar: Durch vielfache Lappen, Buchten, Einsackungen und Invaginationen wird die Kernoberfläche vergrößert. Im Karyoplasma ist das Chromatin fein verteilt, in kleinen Schollen und Inseln entlang der Kernhülle sichtbar. Maximal kondensierter Nukleolus (NC) gibt den Status eines völlig inaktiven Zustandes dieses Kernorganells, die äußere Membran der Kernhülle mit Abhebungen, Auftreibungen und großen Spalträumen zusammen mit dem irregulären Umriß einem hochaktiven Kernstatus an.

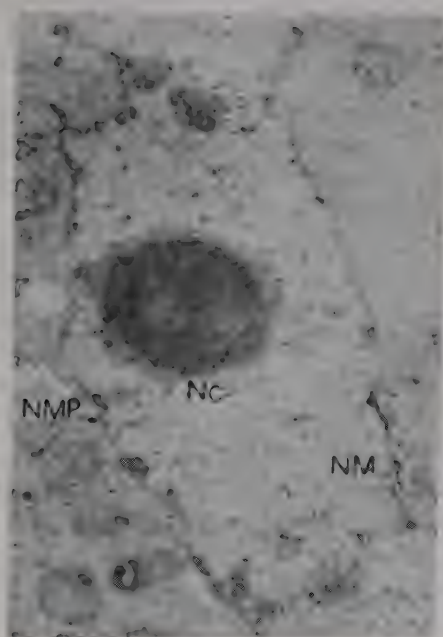
1 h Osmium-Fix. Vestopal, Vergr. 9 500 x

Abb. 5 a Kern aus einer äußeren Morula-Blastomere vom Kaninchen. Der Nukleolus (NC) wird dargestellt als ein rund-ovales Kernorganell ohne Hüllmembran. Unter dem locker aufgelagerten Randchromatin sind die fädigen und granulierten Ribonukleotidpartikel in einer hochkondensierten Form verpackt und als elektronendichte Struktur abgebildet. Kernhülle (NM) mit Kernporen (NMP).

1 h Osmium-Fix. Vestopal, Vergr. 23 000 x



4 b



5 a

ist es nach der Fixierung mit Osmiumsäure oder Glutaraldehyd strukturell wenig differenziert. Es erscheint im Vitalbild nach Untersuchungen im Amplituden- wie im Phasenkontrastmikroskop weitgehend homogen (ALTMANN u. GRUNDMANN, 1955). Osmiumtetroxyd ist eines der wenigen Fixiermittel, die dem Strukturhaltungszustand des Vitalbildes am nächsten kommen. Daher wurden die für die vorliegenden Untersuchungen verwendeten Kaninchenkeime ausnahmslos und gleichlang in Osmiumsäure fixiert (siehe Material u. Methode). Das Resultat ist das Bild eines fast strukturlosen Kernraumes (Abb. 14 b). So ist es nur möglich, allgemein das Karyoplasma als Funktionsraum vom Chromatin anzusehen. Man entdeckte in diesem Zusammenhang nicht viel mehr Einzelheiten als mit dem Lichtmikroskop, außer daß Chromatin und Nukleolen unmittelbar im Karyoplasma liegen und nicht wie Organellen des Zytoplasmas von einer Membran umhüllt sind (Abb. 4 a, 4 b).

In elektronenmikroskopischen Bildern von Zellkernen aus Morula-Blastomeren werden als wesentliche Strukturelemente des Kernplasmas mehr oder weniger gewundene Stränge mit ca. 100 Å Durchmesser festgestellt, die als Elementarfibrillen bezeichnet werden. Diese fibrillären Strukturelemente scheinen schraubig zu verlaufen und sind sicher voneinander isoliert. Mit einem Durchmesser von weniger als 100 Å dürften es die DNP-Elementarfibrillen sein. Sie sind über das gesamte Karyoplasma verteilt und durchdringen auch den Nukleolus. Sie aggregieren zu kleinen Schollen und verdichten sich regelmäßig an der Kernhülle (DNP, Abb. 4 a, 4 b). Noch feineres, fädiges Material von sehr geringer Dichte besteht anscheinend hauptsächlich aus großen Proteinmolekülen und ist wohl dem Grundkaryoplasma zuzurechnen. Neben diesen fibrillären Strukturen werden ribosomenähnliche Granula mit einem Durchmesser von 150 - 200 Å gefunden, die mit DNP-Fibrillen assoziiert sein können, aber auch frei oder in kleinen Gruppen und größeren Inseln im Karyoplasma verteilt sind (Abb. 4 a, 4 b).

Der Nukleolus, hier wie schon im Zweizellenstadium noch in der Einzahl pro Blastomere, stellt sich dar im elektronenmikroskopischen Bild als ein solides, rund-ovales Kernorganell. Ihm fehlt eine umhüllende Membran. Er zeigt eine erhebliche elektronenoptische Dichte (Abb. 5 a, 5 b). Der mittlere Durchmesser beträgt etwa 1,5 μm . In diesem Entwicklungsstadium bestehen die Nukleolen aus einer Menge dicht gelagerter 150 - 200 Å Granula, die wie das Karyoplasma mit feinen fädigen Elementen durchmischt sind, mit diesem assoziiert oder auch fibrillär ausgerichtet. Sie werden als granuläre und fibrilläre Ribonukleoproteinstrukturen (RNP-Elemente) gedeutet, die von einer Hülle DNP-Fibrillen (Randchromatin) umgeben sind. Unregelmäßig stärker kondensierte Bereiche können neben weniger dichten Regionen liegen und den Eindruck eines gewissen, wenn auch unscharfen Musters vermitteln (Abb. 5 c). Dieser Nukleolus scheint im äußeren Bezirk angeschnitten zu sein. Die feinen Fibrillen würden das umgebende Randchromatin darstellen.

c) Grundzytoplasma

Als Grundzytoplasma oder Matrix (Abb. 15 a) bezeichnet der Morphologe denjenigen Anteil des Protoplasmas, in den definierte Organellen und Membranstrukturen eingelagert sind, wie z. B. das endoplasmatische Retikulum, der Golgi-Apparat mit seinen Vesikeln und Vakuolen, die Gruppe der lysosomalen Kompartimente, die Mitochondrien, biochemisch gut analysierte Funktionskomplexe wie die Ribosomen und Polysomen und schließlich Reservestoffe wie z. B. Glykogen und Lipidtropfen. Es stellt seinerseits aber ein wichtiges "zytoplasmatisches Zellkompartiment" als Zytosol dar, in dem sich alle "löslichen" Enzyme und die für den Strukturumsatz (Auf- und Abbau von Membranen) notwendigen Bausteine, wie Lipide und Proteine befinden. Im submikroskopischen Bereich stellt es den Reaktions-

Abb. 5 b Ausschnitt aus dem Zellkern einer Morulablastomere des Kaninchens. Nukleolus im Schnitt durch seine äußere Kappe: Chromatinrand und beginnende RNP-Zone, dichte Areale am Übergang.

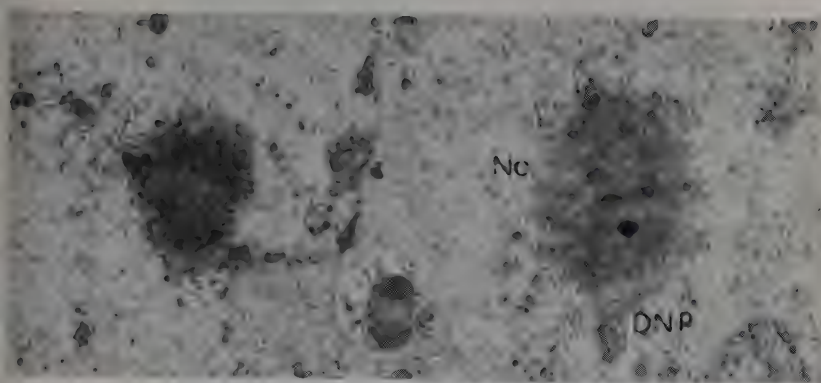
1 h Osmium-Fix. Vestopal, Vergr. 23 400 x

Abb. 5 c Schnitt durch die äußeren Bezirke eines Nukleolus (NC): Randchromatin (DNP) ist unregelmäßig verteilt, kondensierte RNP-Zonen wechseln mit lichten Chromatinzonen ab. Es entsteht der Eindruck einer gewissen Desorganisation.

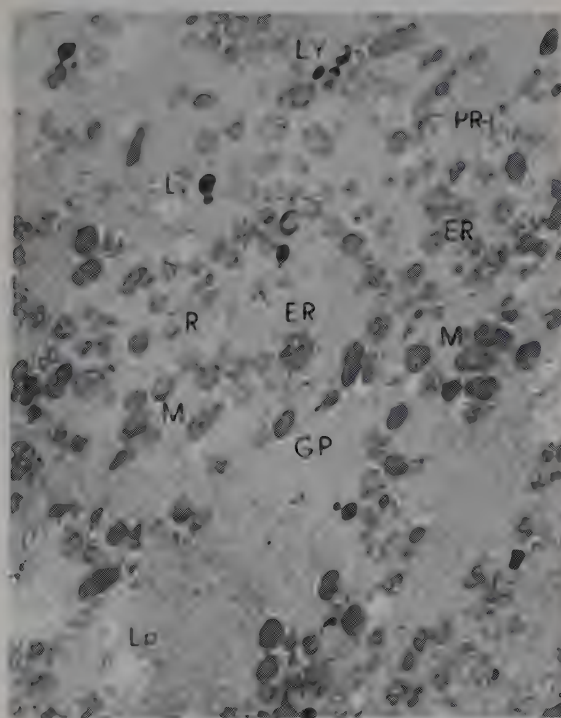
1 h Osmium-Fix. Vestopal, Vergr. 27 000 x

Abb. 6 Ausschnitt aus einer äußeren Morula-Blastomere. In ein Grundplasma (GP) als "Funktionsraum" sind die regellos verteilten Zellorganellen eingebettet: Vakuolen des Endoplasmatischen Retikulums (ER), Lipidtropfen (Lp), Lysosomen (Ly), Mitochondrien (M), Polyribosomenaggregate (PR) und Ribosomenrosetten (R). Die Matrix (GP) ist heterogen dargestellt als fädiggranuliertes Grundplasma. Siehe auch Abb. 6 a.

1 h Osmium-Fix., Vestopal, U/Pb-Kontr., Vergr. ca. 10 000 x



5 b, 5 c



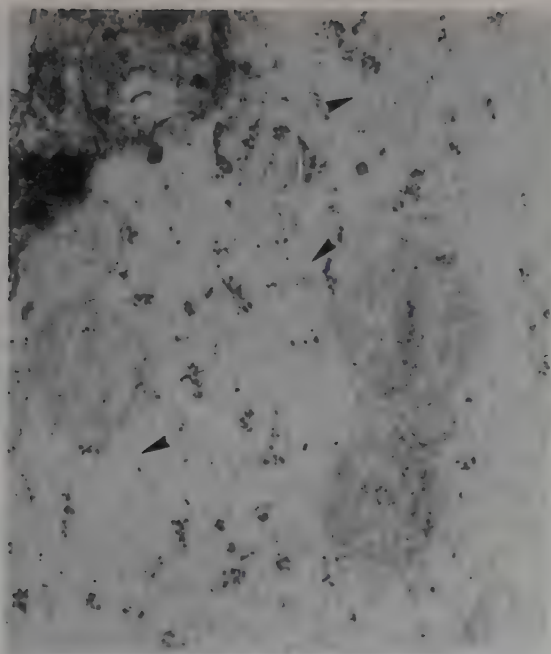
6

Abb. 6 a Ausschnitt aus einer Trophoblastzelle einer frühen Kaninchenblastozyste (72 h p.c.). Die Pfeilköpfe deuten auf fibrilläre Strukturen, die möglicherweise Bestandteile des Grundplasmas darstellen: Mikrofilamente

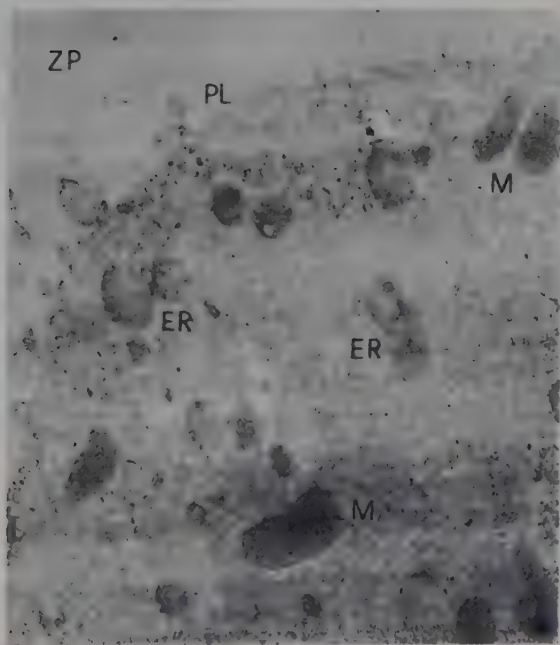
1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 45 000 x

Abb. 6 b Ausschnitt aus einer Trophoblastzelle einer frühen Kaninchenblastozyste (72 h p.c.). Das Grundzytoplasma erscheint nach Anwendung einer Glutaraldehydfixation wesentlich elektrodichter als nach reiner Osmiumfixation. (ZP) Zona pellucida, (PL) Plasmalëmm, (ER) Vakuolen des endoplasmatischen Retikulums und (M) Mitochondrien.

1 h 3% Glutaraldehydfixierung, U/Pb-Kontr. , Epon, Vergr. 20 000 x



6 a



6 b

raum dar, in dem die Stoffe sich vermischen und gegeneinander diffundieren können. Es ist das Milieu der verschiedenen Organelle, aus dem sie notwendige Substanzen aufnehmen und in das die Rückstände abgegeben werden. In ihm finden viele biochemische Reaktionen der Stoffwechselzyklen statt.

Im elektronenmikroskopischen Bereich sind (in etwas späterem Stadium) fibrilläre und granuläre Bestandteile darstellbar, die bei reiner Osmium-Fixierung (Abb. 6 a, Stadium der frühen Blastozyste) allerdings weniger elektronendicht erscheinen als bei der Anwendung einer Glutaraldehyd-Fixierung (Abb. 6 b). Zu den fibrillären Strukturen des Grundplasmas gehören die Tonofilamente mit einem Durchmesser von $50 \text{ \AA}$ und die Myofilamente mit der Größenordnung von $70 - 100 \text{ \AA}$. Auch die Plasmafilamente oder Mikrofilamente, die bei der Orientierung der Blastomeren während der Blastozystenbildung eine gewisse Rolle spielen mögen, sind diesen fibrillären Strukturen zuzuordnen (Lit. vgl. KOMNICK et al. 1971). Mikrotubuli des Grundzytoplasmas mit einem Durchmesser von ungefähr $250 \text{ \AA}$ sind von ZAMBONI a. MASTROIANNI (1966) und STEGNER (1967) im Spindelapparat bei der II. Reifungsteilung einer Kanincheneizelle bzw. im synaptischen Komplex in jungen menschlichen Oozyten abgebildet worden. In Mitosebildern während der Furchung bis zur Bildung der frühen Blastozyste habe ich tubuläre Strukturen nicht beobachten können. Als granuläre Bestandteile des Grundplasmas treten große Eiweißmoleküle, Glykogenpartikel von etwa $500 \text{ \AA}$ Durchmesser und Lipidtropfen unterschiedlicher Größe hervor. Über Ribosomen berichten gesonderte Abschnitte.

Die Verteilung der Organelle in den äußeren Zellen der Morula ergibt ein unterschiedliches Bild. Während in manchen Keimen eine fast gleichmäßige Verteilung über den gesamten Zytoplasmaraum zu beobachten ist, wie es die Abbildung 6 c als Ausschnitt darlegt, wird auf anderen Schnitten durch das Morulastadium eine Häufung von Organellen entlang der Blastomerenperipherie zur Regel (Abb. 3 a).

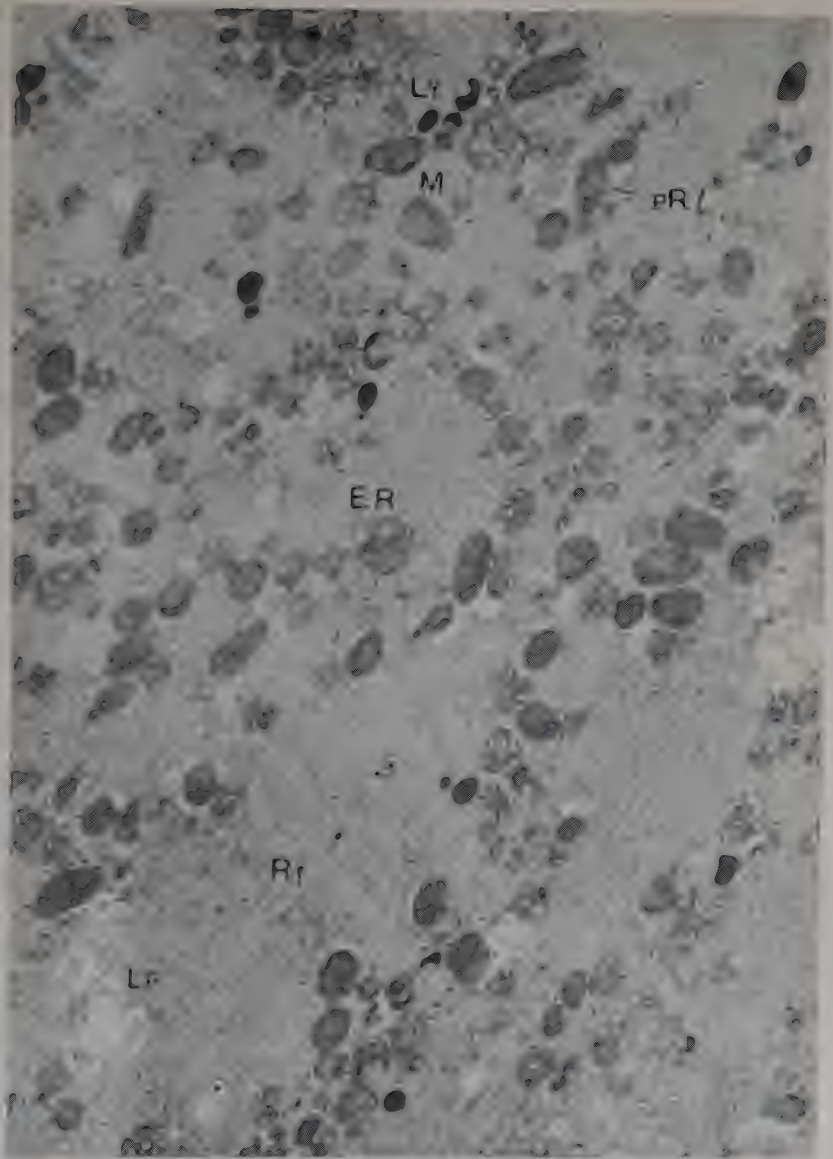


Abb. 6 c Äußere Morula-Blastomere.

Übersichtsdarstellung des Zytoplasmas mit den Zellorganellen: Endoplasmatisches Retikulum (ER), Lipidtropfen (LP), Lysosomen (Ly), Poly-Ribosomen (pR) und Ribosomenrosetten (Rr).

1 h Osmium-Fix. Vestopal, Vergr. 13 800 x

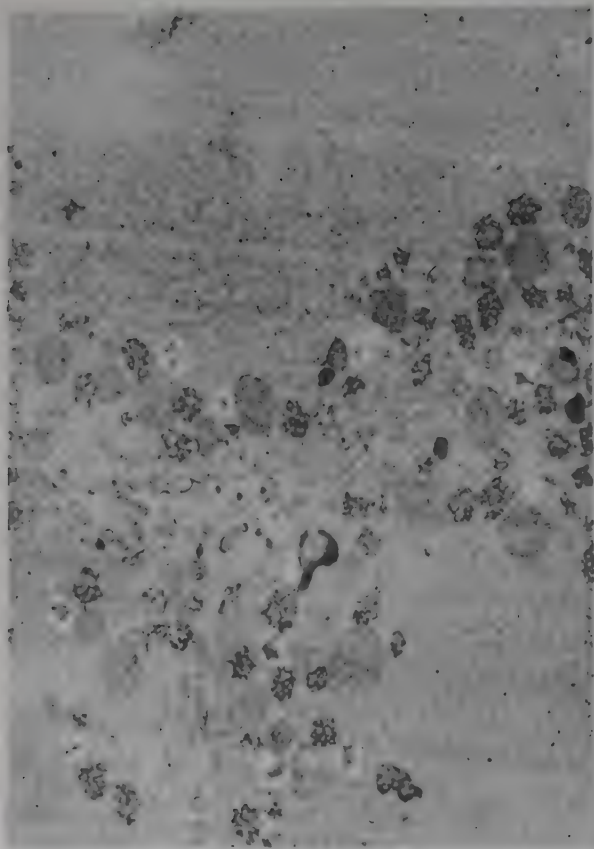


Abb. 3 a Ausschnitt aus 3 äußeren Morulablastomeren des Kaninchens. An der Berührungsstelle der drei Morulazellen wird eine Häufung von Zellorganellen entlang der Blastomerenperipherie dargestellt.

1 h Osmium-Fix. Epon, Vergr. 12 500 x

d) Endoplasmatisches Retikulum

Im Zytoplasma findet man auf EM-Bildern von äußeren Morulablastomeren die Vakuolen oder Zisternen des Endoplasmatischen Retikulums (ER; Abb. 7a), die als blasige Vesikel von einer einfachen Membran umhüllt sind und deren Inhalt fein-flockig und unregelmäßig dicht dargestellt wird. Ihr mittlerer Durchmesser beträgt 0,5 - 0,7 μm . Durch die Fixierung und anschließende Entwässerung in Alkohol ist der in vivo gleichmäßig und feindisperse Dotterinhalt dieser Vesikel ausgeflockt und geschrumpft. Deswegen kann man ihn bei allen ER-Vakuolen regelmäßig von der Hüllmembran zurückgezogen vorfinden. Wenn auch der Membran gelegentlich von außen einzelne Ribosomen anhaften, gehören die Membranen dieser Dotterbläschen zum glatten Endoplasmatischen Retikulum. Ein rauhes ER, Ergoplasmatisches Retikulum, wie es KRAUSKOPF (1967) und SEIDEL (1969) als Sonderform im 2-Zellenstadium vorfinden, war nach sorgfältigsten Beobachtungen in keiner Blastomere des Morulastadiums festzustellen.

e) Gefensterte Membranen

Ebenso aussichtslos wie die Suche nach Strukturen des rauhen ER war zunächst das Beobachten von Gefensterten Membranen. KRAUSKOPF (1967) hatte sie beschrieben im 2-Zellenstadium der Kaninchenovozyte als vielfache parallel gestapelte Doppelmembran mit osmiophilen Porenkomplexen, die vorwiegend in Kernnähe zu finden waren. Bei der Durchsicht vieler Schnitte durch Kaninchenmorulae habe ich dieses Organell nur einmal beobachten und aufnehmen können (Abb. 8 a). Die Membranstapel sind als solche noch zu erkennen ebenso die dunklen Porenkomplexe. Diese strukturelle Besonderheit im 2-Zellenstadium ist bis zur Bildung der Morula aufgebraucht und aus dem Organellensortiment bis auf einen kleinen Rest verschwunden, der sich aber auch in Auflösung befindet. Aufgrund des so geringen Vorkommens und der strukturellen Änderung

der Kernverhältnisse ist festzustellen, daß Gefensterte Membranen im Morulastadium (und möglicherweise auch davor) nicht mehr gebildet werden.

f) Golgi-Apparat

Der Golgi-Apparat gehört zu den Systemen membranbegrenzter Zisternen des Zytoplasmas. Er besteht in den äußeren Blastomeren der Kaninchenmorula aus drei typischen Komponenten (Abb. 9 a):

- 1) Membranen, einem System von 4 - 6 dichtgepackten, glattwandigen flachen und lamellenartig angeordneten Zisternen (Abb. 9 a, G 1 /). Jede Zisterne erscheint im Schnitt als ein Paar osmiophiler paralleler Membranen (Golgi-membranen), die am Ende ineinander übergehen und so einen geschlossenen Hohlraum bilden. Diese Membranpakete sind gestreckt oder leicht gekrümmt und umgeben die Golgi-vakuolen.
- 2) Vesikeln, Haufen von sehr kleinen dichten Bläschen, die an den Rändern der Membranstapel gebildet werden und in unterschiedlicher Zahl vorkommen (Abb. 9a, G 1, VS).
- 3) Größeren Vakuolen. Sie liegen oft in Gruppen zusammen und werden vom Membranstapel zum Teil umschlossen (Abb. 9 a, G 1, V).

Nach biochemischen Untersuchungen (YUNGHANS et al. 1970) liegt die Vermutung nahe, daß einerseits die Bildung von Golgi-Membranen vom ER ausgeht, andererseits der Golgi-Apparat an der Bildung der Plasmamembranen beteiligt ist. Außer der Bedeutung für die Membranbildung bestehen von diesem Kompartiment aus Beziehungen zu verschiedenen anderen Organellen (Abb. 9 a, G 4) die schon rein morphologisch festzustellen sind. Mit dunklem Material gefüllte Golgi-Vesikel (GVS), die auf der Abbildung unregelmäßig den Membranstapel umgeben, stehen zu einer in der Nähe liegenden Vakuole mit dichtem Inhalt (Ly) in Verbindung. Im darüberliegenden Golgi-Apparat (Abb. 9 a, G 5) besitzen Golgi-Vesikel einen

dunklen Inhalt wie primäre Lysosomen , manchmal sind diese mit einer Dottervakuole verschmolzen, deren Inhalt im Abbau begriffen zu sein scheint. Vermutlich stehen die abgebildeten 5 Golgi-Felder im Dienste des digestiven Systems. In diesem Falle würden sie am Transport etwa von Hydrolasen d. h. an der Bildung von Lysosomen bzw. sekundären Autolysosomen beteiligt sein.

Hinsichtlich der Lage in der Blastomere finden sich die Golgiapparate überwiegend in weitem Bogen um den zentralen Kern. Die einzelnen Felder sind gegenüber dem 2-Zellenstadium größer geworden und haben eine weitere Umordnung erfahren (Vergl. KRAUSKOPF, 1967).

g) Lysosomen

Bei der analytischen Beschreibung des Golgi-Apparates ist eine enge Beziehung zu den Lysosomen schon angedeutet worden. Auf elektronenmikroskopischen Aufnahmen von Morula-Blastomeren werden Organelle abgebildet, die von einer einfachen Membran umhüllt werden. Allerdings ist diese je nach Anschnitt oft nicht dargestellt. Diese Organelle unterscheiden sich augenfällig von den übrigen Organellen des Zytoplasmas durch ihren elektronenoptisch sehr dichten, schwarzgefärbten Inhalt (Abb. 10 a, 10 b).

Wie man auf den Bildern sehen kann, sind sie in ihrer Größe und auch in der Anfärbbarkeit des Inhaltes sehr unterschiedlich. Gelegentlich zeigen sie eine helle, oder ganz schwach granulierte Einbuchtung etwa bis in die Mitte des Organells (Abb. 10 a, 1). Auch kann der Inhalt fast einheitlich und gleichmäßig schwarz dargestellt werden (Abb. 10 a, 2), wobei eine benachbarte Organelle von gleicher Größe in ihrer Mitte eine leichte Aufhellung erkennen läßt. Auch werden im dunklen Inhalt noch dichtere, zusammenhängende

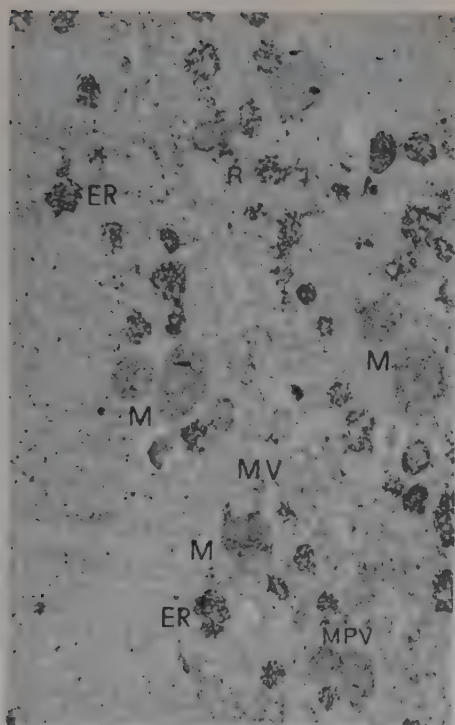
Abb. 7 a Zwei aneinander grenzende äußere Zellen der Kaninchenmorula. Vakuolen des glatten Endoplasmatischen Retikulums (ER) mit flockigem Inhalt, der an der Hüllmembran oft einseitig zurückgezogen ist. Die einfache Membran ist gelegentlich von einzelnen Ribosomen (R) besetzt; kleine Pinocytosevesikel (MPV) in der Nähe oder an dem Organell. Mitochondrien (M), an Zellgrenzen fingerförmig verzahnte Mikrovilli (MV).

1 h Osmium-Fix. Eponeinbettung, Vergr. 12 500 x

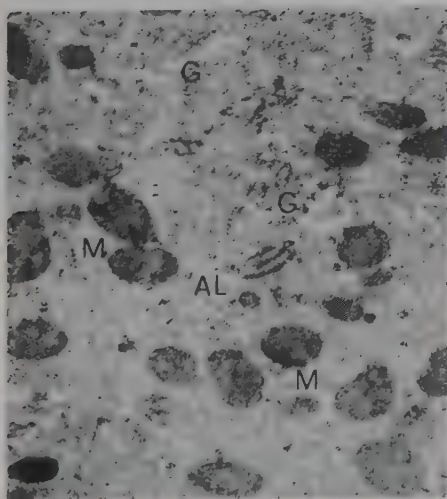
Abb. 8 a Ein kleiner Stapel von Doppelmembranen mit elektronendichten Porenkomplexen, gefensterten Membranen oder annulate lamelles (AL) aus der Randblastomere einer Kaninchenmorula. Diese Struktur ist äußerst selten aufzufinden, dabei lytisch verändert und wird im Morulastadium nicht mehr neu gebildet.

Mitochondrien (M), Golgizone (G).

1 h Osmium-Fix. Vestopal, Vergr. 18 400 x



7 a



8 a

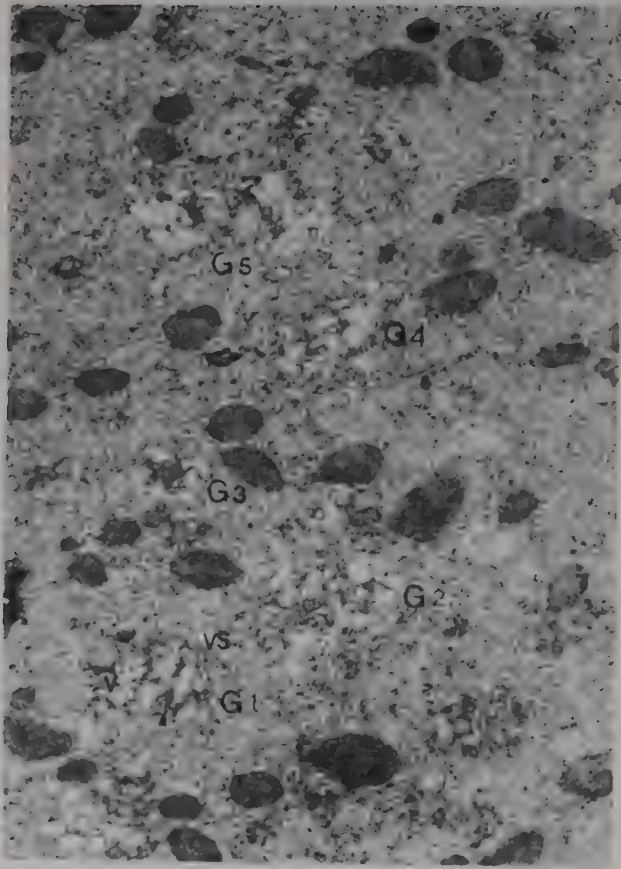


Abb. 9 a Ausschnitt aus einer äußeren Morula-
blastomere des Kaninchens. Auf der Abbildung
sind fünf Golgi-Felder angeschnitten: von unten
nach oben mit G 1, G 2, G 3, G 4 und G 5 be-
zeichnet. Im Zytoplasma Zellorganelle.
1 h Osmium-Fix. Vestopal, Vergr. 18 400 x

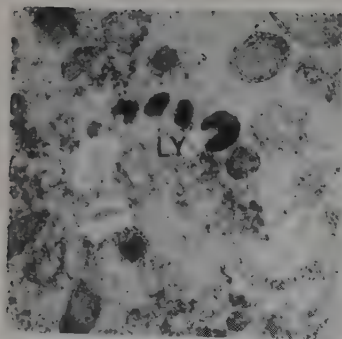
größere oder aufgeteilte, kleinere Areale sichtbar (Abb. 10 b, 1). Diese sehr dichten Bezirke sind im Kompartiment nicht regelmäßig verteilt und lassen an ihrer Grenze zur Umgebung hin lamellenartige Substrukturen erkennen (Abb. 10 b, 2). Außer diesen lamellären Elementen scheinen größere helle, unregelmäßig begrenzte Felder oder scharf wie von einer Membran umhüllte, völlig strukturlose, weiße "Flecken" auf die Anwesenheit von einer weiteren Komponente hinzuweisen, die wahrscheinlich auf Grund ihres Lipoidcharakters während der Präparation ausgewaschen wurde (Abb. 10 c, 1 u. 2; Abb. 10 d, 1).

In die gleiche Gruppe der Organellen möchte ich auch die Formen einordnen, die auf den Abbildungen 10 c und 10 d dargestellt sind. Sie sind beträchtlich größer und zeigen als wesentlichen Unterschied nicht die starke Osmiophile. Ihr Inhalt ist lockerer, wahrscheinlich auch anderer Herkunft und von einer gut sichtbaren einfachen Membran eingeschlossen (Abb. 10 c und d). Die lamellären Strukturen oder auch membranösen Bildungen heben sich deutlich von einer feingranulierten Matrix ab, die gewisse Ähnlichkeit mit dem Grundzytoplasma aufweist. Möglicherweise haben diese Organelle die Aufgabe, gewisse Plasmabezirke einzuschließen und in Verbindung mit den Lysosomen abzubauen, zu verdauen. Aus diesem Grunde ordne ich sie in das Lysosomenkonzept ein.

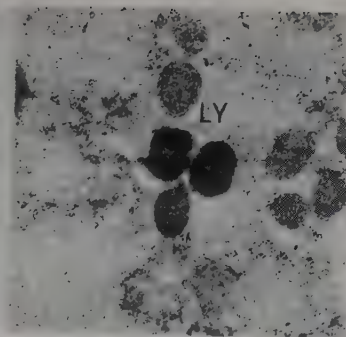
Auch das folgende Organell, der multivesikuläre Körper, multivesicular body (MVB), gehört in diese Gruppe (Abb. 10 e). Multivesikuläre Körper, wie und in welcher Menge sie KRAUSKOPF (1967) für das 2-Zellenstadium des Kaninchenkeimes beschreibt, kommen im Morulastadium nicht mehr vor. Das abgebildete multivesikuläre Bläschen zeigt auch schon deutliche Abwandlungen von der Norm: Die kleinen Vesikel, aus denen der Inhalt be-

Abb. 10 a Ausschnitt aus der äußeren Blastomere der Kaninchenmorula. Lysosomen (Ly) in verschiedenen Formen (und Funktionszuständen?). (1) Gruppe von Lysosomen, bei denen z.T. eine tiefe helle Einbuchtung zu sehen ist. (2) Der Inhalt ist einheitlich elektronendicht.
1 h Osmium-Fix. Vestopal, Vergr. (1) 20 000 x
(2) 18 400 x

Abb. 10 b Lysosomen (Ly) aus einer äußeren Blastomere der Kaninchenmorula. (1) Im dunkel angefärbten Lysosom sind noch dichtere Areale entstanden, die (2) lamelläre oder membranöse Substruktur aufweisen.
1 h Osmium-Fix. Vestopal, Vergr. 20 000 x

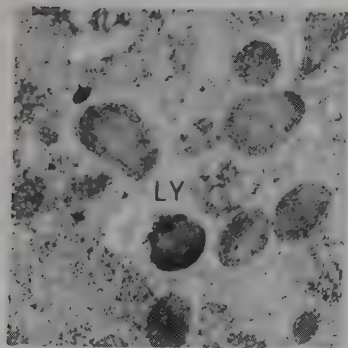


1

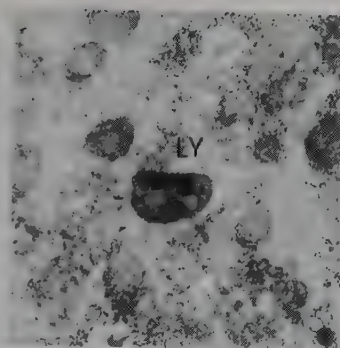


2

10 a



1



2

10 b

steht, sind dicht gepackt und in ihrer Struktur als solche nur schlecht zu erkennen. Die äußere Hüllmembran ist an mehreren Stellen nicht intakt, wie der Umriß eine unregelmäßige, gewellte Oberfläche verrät. Außer diesem beschriebenen Organell konnten weitere trotz sorgfältigster Beobachtungen nicht gefunden werden.

Die dargestellten Lysosomen in ihrer großen Verschiedenheit in Größe und stofflichen Zusammensetzung von den sogenannten microbodies, die auch Peroxisomen genannt werden, zu unterscheiden aufgrund morphologischer Kriterien, ist nicht möglich. Deswegen wird zur Zeit mit ultrahistochemischen Methoden versucht, diese Population von Organellen noch weiter und vor allem die Richtigkeit der Zuordnung zu bestätigen.

h) Mitochondrien

Jedes Mitochondrion besteht aus zwei ineinander geschachtelten Räumen, die durch die innere Mitochondrien-Membran voneinander geschieden sind (Abb. 11 a, b). Die äußere Membran wird als Mitochondrienhülle bezeichnet. Sie besitzt einen anderen Aufbau als die innere, was auf unseren Bildern von Mitochondrien aus der Kaninchenmorula nicht darstellbar ist. Zwischen den beiden Membranen liegt die äußere Mitochondrienkammer (äußere Matrix), deren Breite etwa 40 - 70 Å beträgt. Der zentrale innere Hohlraum ist von einer feingranulierten Grundmasse, der inneren Mitochondrienmatrix ausgefüllt (Speichertypus). In ihr lassen sich hin und wieder unregelmäßig verstreute Granula erkennen, die PEACHEY (1964) als Produkte der Akkumulation zweiwertiger Kationen deutete.

In der Regel verläuft die innere Mitochondrienmembran der äußeren nicht vollständig parallel, sondern bildet Ausbuchtungen in die innere Matrix hinein, die Cristae mitochondriales. Von diesem Typus-Bild abweichend, besitzen die Mitochondrien der Morula-blastomere nur wenige Cristae, welche von der Hülle her sektorähnlich das Organell mit einem parallelen Platten-

stapel durchziehen (Abb. 11 a). Bei anderen Mitochondrien hat die oben erwähnte Kompartimentierung (vermittels äußerer und innerer Mitochondrienmembran) durch vielfache konzentrische Ausbildung der inneren Membran zu einer Form geführt, die meines Erachtens für das Mitochondrion während der Furchung typisch ist und als Zwiebschalentypus bezeichnet werden soll (Abb. 11 b).

Die Verteilung der Mitochondrien im Zytoplasma ist gleichmäßig und ohne Hinweis auf besondere Gruppierungen. Im frühen Morulastadium haben die Mitochondrien hinsichtlich ihrer Verteilung in der Blastomere gegenüber dem 2-Zellenstadium keine Veränderung erfahren. Das Prinzip der Kompartimentierung dagegen hat durch konzentrisches Vervielfachen der inneren Membran, wie es in der Oozyte angelegt, im 2-Zellenstadium beobachtet wurde (KRAUSKOPF, 1967), in der frühen Morula des Kaninchenkeimes zu einer weiteren Strukturvermehrung und damit zu einer stärkeren Differenzierung, Vermehrung und Vergrößerung der Funktionsräume geführt.

i) Ribosomen

Diese Granula, von PALADE (1953) erstmals beschrieben und nach ihm auch PALADE-Granula genannt, lassen sich nur mit Hilfe des Elektronenmikroskopes beobachten. Es sind die kleinsten partikulär organisierten Zellorganellen: Sphärische Ribonukleoproteidpartikel mit einem Durchmesser von 200 - 300 Å, die aus zwei Untereinheiten aufgebaut sind. Ribosomen gibt es in allen Zellen der Kaninchenmorula. Ihre Verteilung kann innerhalb der Zelle von Region zu Region etwas verschieden sein; aber eine größere Dichte, oder eine Verlagerung in bestimmte Zellen ist im Morulastadium nicht zu beobachten; sie sind etwa gleichmäßig verteilt. Man findet sie frei im Grundplasma sowohl als Einzelpartikel wie auch durch mRNA miteinander zu Rosettenformen (Abb. 12 a), zu kurzen Ketten polymerisiert (Abb. 12 b, 1) oder zu größeren Polysomenketten aggregiert, die in enger Nachbarschaft mehrfach gestapelt sein können (Abb. 12 b, 2).

Abb. 10 c, 1 u. 2 Lysosomen (Ly) aus der Randblastomere einer Kaninchenmorula. Helle Bereiche, z. T. scharf konturiert als weiße Flecken deuten darauf hin, daß auch lipoiden Stoffe in diesem Kompartiment sind, die herausgelöst sind (1 u. 2). Weniger dichte Organellen mit Lamellen oder Membranresten (2).

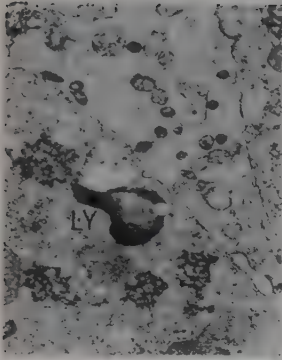
1 h Osmium-Fix. (1) Epon (2) Vestopal,
Vergr. 18 400 x

Abb. 10 d Organelle aus der Lysosomengruppe. Ausschnitt aus einer Randblastomere der Kaninchenmorula. Weniger dichte, größere Kompartimente mit (1) lipoiden und lamellären Arealen im Inhalt. (2) Nur Lamellen oder membranöse Bestandteile in einer dem Grundplasma entsprechenden Matrix, in der nächsten Nachbarschaft ein Lysosom von Abb. 10 a, 2.

1 h Osmium-Fix. Vestopal, Vergr. 13 800 x

Abb. 10 e MVB Ausschnitt aus einer Randblastomere der Kaninchenmorula. Ein Multivesikuläres Körperchen (MVB) als letzter Rest einer vergangenen Organellenpopulation. Die einzelnen Vesikel sind undeutlich zu sehen und die Hüllmembran in Auflösung begriffen. Im Morulastadium sind MVB selten.

1 h Osmium-Fix. Vestopal, Vergr. 13 800 x

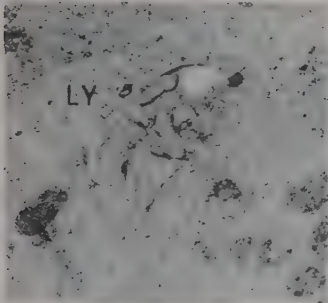


1

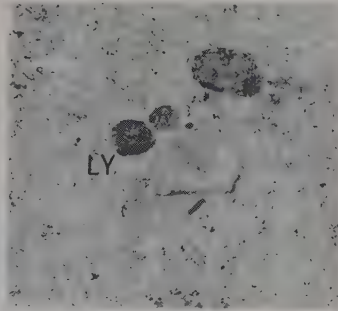


2

10 c

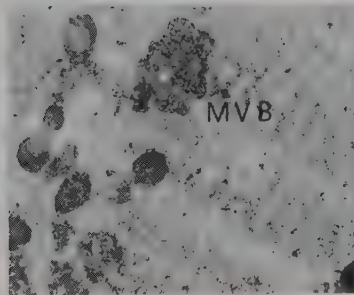


1



2

10 d



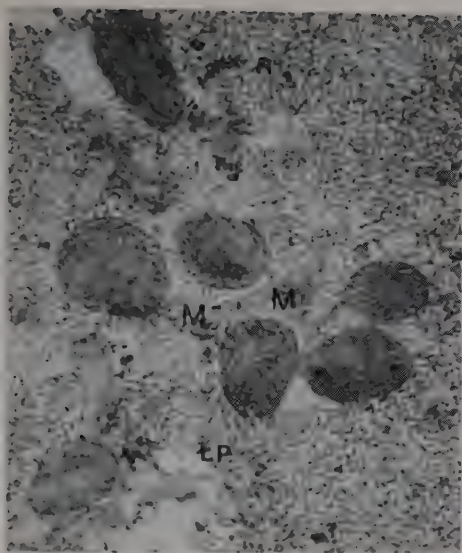
10 e

Abb. 11 a Eine Gruppe Mitochondrien (M) aus der äußeren Morulablastomere des Kaninchens. Von der Mitochondrienhülle aus durchzieht ein 8-facher, paralleler Stapel von Cristae sektorenähnlich den Matrixraum, Lipidtropfen (LP); Ribosomen in Rosettenform und irregulären Gruppen (R)

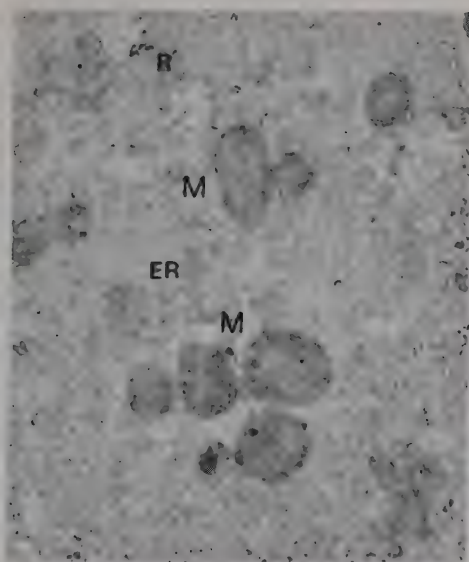
1 h Osmium-Fix. Vestopal, Vergr. 35 000 x

Abb. 11 b Mitochondrien (M) aus einer äußeren Morula-Blastomere des Kaninchens. Durch konzentrisches Vervielfachen der inneren Mitochondrienmembran ist eine "Zwiebelschalen"-Form entstanden, der funktionell eine Erweiterung der Kompartimente entspricht. Ribosomenhaufen und -rosetten (R), Endoplasmatisches Retikulum (ER).

1 h Osmium-Fix. Vestopal, Vergr. 26 000 x



11 a



11 b

Die Ribosomen in der frühen Morula sind jedoch nicht häufig und auf einem Schnitt nicht in jeder Blastomere zu finden. Während KRAUSKOPF (1967) in Oozyte und im 2-Zellenstadium des Kanincheneies Ribosomenaggregate lediglich bis zur Bildung einer 8 - 10 gliedrigen Rosette beobachten konnte, sind in der Morula Polysomenketten und mehrfach angelegte Polysomenaggregate in "Zick-Zack"-Form auffallend (Abb. 12 b). Sie können eine erweiterte Proteinbiosynthese oder eine solche auf einer höheren Organisationsstufe bedeuten.

2. Innere Blastomeren

Während die Randblastomeren ohne den perivitellinen Spalt der Zona pellucida dicht anliegen und deutlich abgeflacht sind (Seite 12) behalten die inneren Blastomeren - auf dem der Beschreibung zugrunde gelegten Schnitt sind es zwei - ihre ursprüngliche runde Form bei. Wenn man annimmt, daß auch in den inneren Zellen die Kerne zentral liegen, geht der vorliegende Schnitt durch die Mitte der inneren Zellen: In beiden sind jeweils drei Kernausschnitte zu beobachten. Ein Kernstück beinhaltet einen Nukleolus. Auf diesen trifft die Beschreibung eines Nukleolus der äußeren Blastomere genau zu. Ebenso unterscheiden sich die Zytoplasmaorganellen der inneren Zellen von denen der äußeren Blastomeren in keiner Weise. Auch folgen sie dem gleichen Verteilungsprinzip: Der Zellperipherie entlang gewinnen sie die größte Dichte.

Man kann demnach schließen, daß sich in der frühen Kaninchenmorula 45 h p.c. im 16-Zellenstadium, die inneren und äußeren Blastomeren nach elektronenmikroskopischen Beobachtungen hinsichtlich ihrer Strukturelemente und deren Anordnung nicht unterscheiden. Hinsichtlich des in S. 12 aufgeworfenen Differenzierungsproblems läßt sich lediglich eine winzige Feststellung machen: Da das Plasmalemm weder vielfache Mikrovilli noch Desmosomen ausbildet, können die inneren Blastomeren in ihrem lockeren Verband bleiben und sind zu Gestaltungsbewegungen befähigt. Nach dem Augenschein der Bilder besitzen sie ein geringeres Volumen als die Außenblastomeren. Man würde meinen, bei den inneren Blastomeren sei die Oberflächenspannung vergrößert.

3. Ergebnisse des Kapitels IV

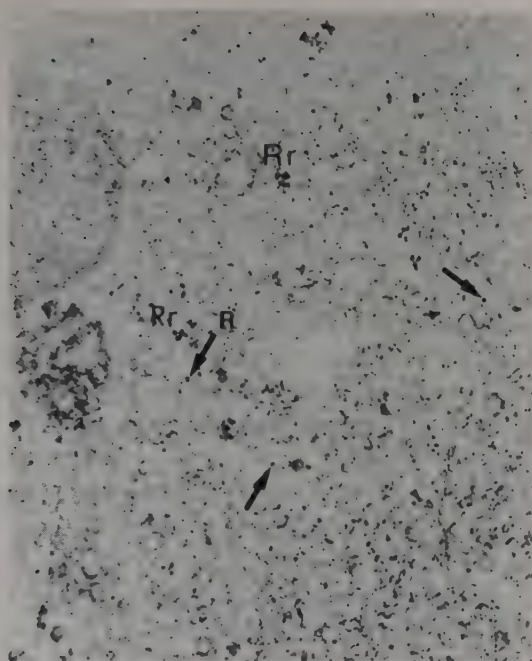
1.) In den äußeren Blastomeren der Kaninchenmorula hat das Plasmalemm (Ovolemm, Zytotolemm) gegenüber

Abb. 12 a Ribosomen (R) aus einer Morulazelle des Kanincheneies. Im Grundplasma verstreut viele einzelne Ribosomen (R) oder deren Untereinheiten, die aber von partikulären Elementen des Grundzytoplasmas nicht zu unterscheiden sind. Ribosomen (R) werden durch einen m-RNS-Raden zu Rosettenformen (Rr) vereinigt zu einem Polysom.

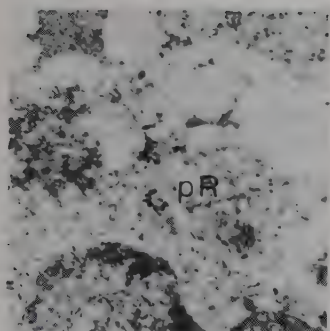
1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 50 000 x

Abb. 12 b Polysomen (pR) aus Morulablastomeren des Kanincheneies. Ribosomen sind auf dem mRNA-Faden zu einer kurzen Kette (8 Ribosomen) vereinigt (1) oder in "Zick-Zack"-Linien zu größeren Syntheseeinheiten aggregiert und in enger Nachbarschaft 4-fach gestapelt (2).

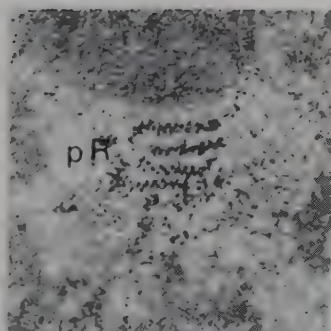
1 h Osmium-Fix. Epon (1), Vestopal (2),
Vergr. (1) 50 000 x, (2) 58 000 x



12 a



1



2

12 b

seiner glatten Oberfläche im 2-Zellenstadium und einer nur mäßigen Mikropinocytoseaktivität - es fehlen nach KRAUSKOPF diese Vesikel ganz - wieder entsprechende Formen ausgebildet. Kurze, stummelförmige Mikrovilli, Bläschen in kleinen Gruppen, in das Zytoplasma zu befördernde Mikropinocytosevesikel lassen eine erhöhte Stoffaufnahme von außen her erkennen. Zwischen den Zellen - auch zwischen den inneren und äußeren Zellen - ist durch Bildung von zahlreichen Mikrovilli und Pinocytosebläschen ein reger Stoffaustausch gewährleistet. Zahlreiche besondere Kontaktformen, desmosomale Komplexe und Schlußleisten lassen eine "Bindung auf längere Zeit" erwarten. Doch sind diese lediglich auf die äußeren Blastomeren beschränkt. Die inneren Blastomeren behalten durch Abwesenheit solcher Schlußleisten autonom Bewegung und sind damit zu Gestaltungsbewegungen befähigt. Wir haben das auf Vergrößerung der Oberflächenspannung zurückgeführt.

2.) Der Kern der Morulablastomere zeigt gegenüber dem 2-Zellenstadium wesentliche Veränderungen. Durch vielfache Einbuchtungen und Invaginationen wird seine Oberfläche beträchtlich vergrößert. Die äußere Membran der Kernhülle erweitert sich an vielen Stellen zu Spalträumen, Zisternen. Der Kerninnenraum ist von einem feindispersen Grundplasma erfüllt. Entlang der Kernhülle außerhalb der Kernporen sammeln sich Chromatinschollen und DNP-Substanzen. Dies alles sind morphologische Kriterien für eine sehr große Kernaktivität im Sinne der DNS-Synthesen.

Dagegen bietet der Nukleolus das Bild einer minimalen RNS-Synthese (höchste Kondensation, kugelige Form).

3.) Im Grundzytoplasma sind durch elektronenmikroskopische Untersuchungen Einzelheiten der Zusammensetzung nicht festzustellen.

4.) Das Endoplasmatische Retikulum besteht aus den Zisternen des glatten ER, die Dottermaterial ent-

halten. Im Unterschied zu den Feststellungen von Chr. KRAUSKOPF am 2-Zellenstadium stehen diese Vakuolen strukturell nicht mehr miteinander in Verbindung.

5.) Der Golgi-Apparat ändert sich als Organell im Aufbau gegenüber dem 2-Zellenstadium nicht. Aber in seiner Ausdehnung ist eine Zunahme festzustellen. Hinsichtlich Lage und Verteilung im Zytoplasma setzte eine Umschichtung ein. In einem weiten Bogen sind die Goldi-Apparate etwa gleichmäßig um den Kern herum angeordnet. Eine zahlenmäßige Zunahme ist, vorbehaltlich einer späteren Auszählung, nicht festzustellen.

6.) Als Lysosomen werden Organelle bezeichnet, die KRAUSKOPF (1967) unter den sog. Cytosomen beschrieben hat.

Sie zeichnen sich aus durch besondere Dichte des Inhalts. Weitere Substrukturen oder Differenzierungen und die Vielfältigkeit der Formen können als unterschiedliche Funktionszustände der Kompartimente gedeutet werden. Daß sie Träger der lysosomalen Enzyme sind, soll durch ultrahistochemische Nachweisreaktionen zur Zeit bestätigt werden. Mit dem Golgi-Apparat sind sie im digestiven System eng verbunden. Daneben wäre es wichtig, noch weitere Korrelationen aufzudecken und ihre Unterscheidung von microbodies und Peroxisomen zu ermöglichen.

7.) Multivesikuläre Körper, die auch der Lysosomengruppe zugeordnet werden, beobachtet man in der Morula-Blastomere nur sehr selten.

8.) Die Mitochondrien sind, wie auch im 2-Zellen-Stadium, gleichmäßig im Zytoplasma verteilt. Das einzelne Organell wird gegliedert durch Cristae, die die Matrix sektorenartig durchschneiden, oder durch konzentrisches Vervielfachen der inneren Mitochondrienmembran (Mitochondrien vom Zwiebelschalentyp).

9.) Die Ribosomen bilden wie im 2-Zellenstadium Ribosomenrosetten aus. Daneben entstehen im Morulastadium auch kurze Ribosomenketten, die gestreckt oder leicht gebogen sein können, und außerdem Polysomen-Aggregate im "Zick-Zack"-Muster, die einzeln oder mehrfach nebeneinander in naher Nachbarschaft vorkommen.

10.) Die gefensterten Membranen, die im 2-Zellenstadium zahlreich vorhanden waren, treten im Morulastadium nicht mehr auf. Dieses Organell ist nur ein einiiges Mal beobachtet worden.

V Untersuchungen an Kaninchenkeimen
in einem späteren Morulastadium
58 h p.c.

In diesem Entwicklungsstadium besteht die Morula des Kaninchenkeimes aus 30 - 35 Blastomeren. Auf einem EM-Schnittbild etwa durch die Äquatorebene (Abb. 13 a) sieht man 12 äußere, der Zona pellucida eng anliegende Zellen, die zum Teil etwas abgeflacht sind. Sie umgeben vollkommen 10 innere Zellen. Die inneren Blastomeren liegen in lockerem Verband, sind rund-oval und scheinen etwas kleiner zu sein als die äußeren. Mit der Mucoproteidhülle, die in ihrer Ausdehnung dem Stadium der frühen Morula entspricht, und der Zona pellucida beträgt der Durchmesser des Keimes fast 0,4 mm, der des nackten Eies 0,13 mm (vergleiche SEIDEL 1960 Normentafel Zeile 11 u. 12).

Einigen älteren Untersuchungen zufolge (VAN BENEDEN, 1880; ASSHETON, 1894; GREGORY, 1930) soll die Zytoplasmazusammensetzung von außen und innen liegenden Blastomeren verschieden sein. Nur wenn diese Verschiedenheit durch besondere Art der Verteilung der Strukturelemente oder spezielle Anordnungen von Kompartimenten und Organellen im Zytoplasma bedingt ist, wird sie eventuell durch eine elektronenoptische Darstellung aufgezeigt werden können; liegt sie aber im Substanziellen, wird sie sich dem rein morphologischen Zugang entziehen und einer ultrahistochemischen, elektronenmikroskopischen Klärung vorbehalten bleiben. Sie könnte auch sowohl durch die Struktur wie auch durch die stoffliche Zusammensetzung bedingt sein. Daß letzteres nicht von der Hand zu weisen ist, lassen zunächst die Beobachtungen von GREGORY (1930) erkennen. Er stellte im Morulastadium lichtmikroskopisch eine unterschiedliche Zytoplasmakonstitution von äußeren und inneren Zellen, die sich in einer stärkeren Farbreaktion der peripheren Zellen äußert. Von DALCQ (1963) wurde sie den metachromatisch reagierenden, relativ großen

Granula überwiegend in den präsumptiven Trophoblastzellen zugeschrieben. Die Intensität der Färbung nimmt bis zum Morulastadium zu, klingt aber in einer späteren Phase des Keimblasenstadiums wieder ab. Auch DENKER (1971) findet, daß die inneren präsumptiven Embryonalzellen sich nach FAE-Fixierung mit Bromphenolblau leichter färben als die präsumptiven Trophoblastzellen, und obendrein diese Zellen auf die HALE'sche Eisen-Kolloid-Bindungsreaktion vermehrt positiv reagieren, also geringeren Protein- und stärkeren RNS-Gehalt aufweisen.

Unser Problem bleibt der Nachweis von Strukturänderungen, die möglicherweise im Stadium der frühen bis späteren Morula Ausdruck beginnender Differenzierung sein können. Da nach GREGORY (1930) die unterschiedliche Zytoplasmadichte von inneren und äußeren Zellen im Laufe der Entwicklung der Morula zunächst zunimmt, aber bei etwa 76 h alten Keimen wieder zurückgeht, habe ich als Gegenstand der folgenden Untersuchung ein Zwischenstadium, die 58 Std. alte Morula, ausgewählt.

1. Äußere Blastomeren -----

Die äußeren Zellen sind etwas abgeflacht, liegen der Zona pellucida dicht an und wölben sich gelegentlich ein wenig vor gegen den lockeren Verband der inneren Zellen. Alle Blastomeren sind von einer geschlossenen Zellmembran, dem Plasmalemm umhüllt.

a) Plasmalemm

Diese äußere Zellmembran ist, wie schon S. 12f beschrieben, in der Lage, zur Zona pellucida, zu den Nachbarblastomeren und zu den inneren Blastomeren hin spezielle Formen, besondere Verbindungen und zusätzliche, stoffliche Ausprägungen zu schaffen. Das geschieht in diesem Stadium in vermehrtem Maße.

Während das Plasmalemm der frühen Morula mit einzelnen Mikrovilli in die Zona vordrang, ihr im übrigen auf



Abb. 13 a Schnittbild durch den mittleren Teil einer Morula 58 h p.c.

Von der Zona pellucida (Zp) werden 12 äußere Blastomeren (aZ) und 10 zum Teil nur angeschnittene innere Zellen (iZ) eingehüllt. Der Durchmesser der Morula (ohne Zona pellucida und Mucoproteidschicht) beträgt 0,13 mm, der des gesamten Keimes (in vivo) etwa 0,4 mm.

1 h Osmium-Fix. U/Pb-Kontr. Epon, Vergr. 1 832 x

weiten Strecken glatt anlag, bildet es jetzt (Abb. 13 b) eine große Menge kurzer Mikrovilli aus, die mit an vielen Stellen deutlich verdickten Membranen (möglicherweise als Ortolytischer Fermente) den enzymatischen Abbau der Zona pellucida beginnen. Dabei schnüren sich die zahlreichen dunklen Pinocytosebläschen (MPV) "coated vesicles", an der Basis der Mikrovilli ab und vermitteln den Stofftransport in die Zelle hinein.

Die gleiche Funktion haben sie im interzellulären Stoffaustausch. An den Hüllmembranen von zwei aneinandergrenzenden Blastomeren entstehen fibrilläre, dunkle elektronendichte Membranverdickungen. Als desmosomale Gebilde tauschen sie unmittelbar Stoffe aus oder geben einseitig gerichtet Pinocytosebläschen in den Interzellularraum ab, von wo sie durch das gegenüberliegende Plasmalemm aufgenommen oder, in größeren Vakuolen gesammelt, extrazellulär über weite Räume verteilt werden können. Auch vereinzelte Mikrovilli zwingen sich in den schmalen Spalt hinein, der von den geraden, fast parallel laufenden Oberflächenmembranen benachbarter Zellen gebildet wird. Das Plasmalemm folgt dem Verlauf des Mikrovillus, so daß ein mäanderförmiger Umriss der Zellhülle entsteht (Abb. 13 c).

Schlußleistenähnliche Strukturen, wie sie an der Basis zweier äußerer Blastomeren der frühen Morula nur gelegentlich beobachtet werden, sind in diesem Entwicklungsstadium regelmäßig als stabilisierende Elemente des Plasmalemmes ausgebildet (Abb. 13 d, 1 u. 2; 13 c). Sie stellen einen besonders engen Kontakt benachbarter Zellmembranen dar und unterbinden jeden unkontrollierten Stoffdurchtritt über den Interzellularraum (SITTE 1971). Zu den inneren Zellen hin erweist sich die Zellemembran in diesem Morulastadium an einigen wenigen Stellen von einer stäbchenartigen bis feinfaserigen Schicht, der Glykokalyx, "sweet husk", "cell coat" (BENNETT 1963), überzogen, die wahrscheinlich aus sauren Mucopoly-

sacchariden oder Mucoproteiden besteht und erst in der Blastozyste ihre vollkommene Ausbildung erlangt. Die Blastomeren können durch die selektiven Einfluß auf die Substanzen nehmen, die von ihnen in das Extrazellulärmedium (Flüssigkeit in der Blastozysten-höhle) abgegeben oder von daher aufgenommen werden. Vor allem aber erhalten die inneren Blastomeren gegenüber den äußeren einen Abschluß, der den Embryonal-knoten innerhalb des Trophoblasts verselbstständigt, ihm Gleitfähigkeit verleiht und eigene Gestaltungsbewegungen ermöglicht.

b) Kern

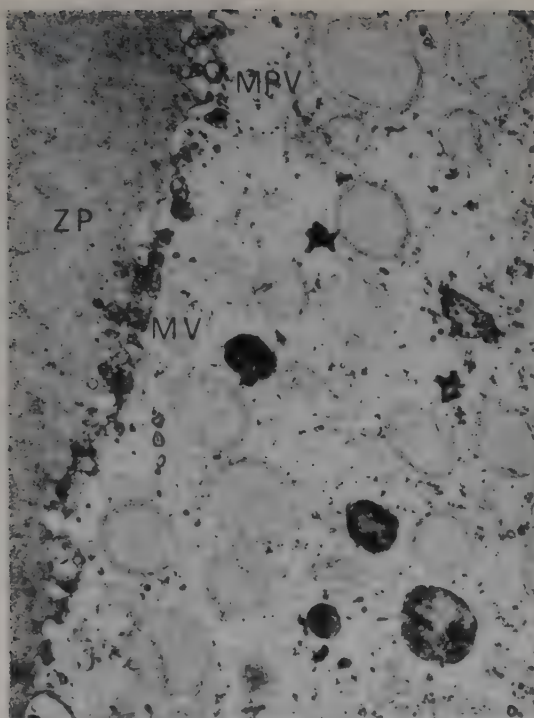
Hinsichtlich der Lage des Kerns in der Blastomere ist in diesem Stadium gegenüber der frühen Morula eine Änderung nicht eingetreten. Allerdings hat sich im Gesamtbild des Kernes eine beträchtliche Wandlung vollzogen (Abb. 14 a). Bis auf einzelne kleinere Einbuchtungen und tiefe Invaginationen ist die Kernoberfläche glatt und ausgeglichen, wobei der Umriß darstellt, daß die Kerne in den Blastomeren dieses Morulastadiums eine kugelige bis ovoide Form angenommen haben.

Auch an der Kernhülle (Abb. 14 b), die ich oben in ihren Einzelheiten beschrieben habe und an dieser Stelle noch einmal als ein den Kern- und Zytoplasmaraum verbindendes Organell hervorhebe, kann man beobachten, daß sich die Aussackungen und Abhebungen der äußeren, zytoplasmatischen Membran und die häufigen Ausweitungen der perinuklearen Zisterne weitgehend zurückgebildet haben und damit auf einen veränderten physiologischen Zellstatus bzw. auf eine Aktivitätsänderung des Kerns hinweisen.

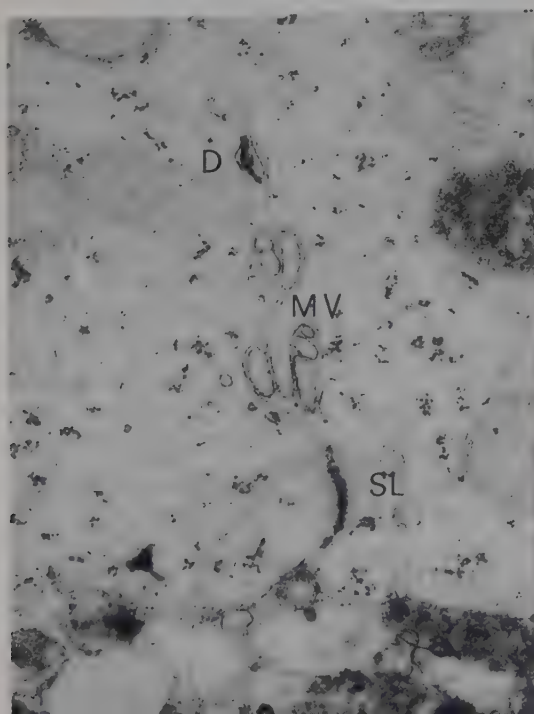
Im Querschnitt durch die Kernhülle (Abb. 14 b) sind regelmäßig wieder die Profile von Kernporen getroffen. Die Öffnung einer Kernpore mit einem Durchmesser von etwa $600 \text{ \AA}$ ist mit dem Diaphragma überspannt, das in der Mitte ein dunkles Granulum trägt (Pfeil). Wo das

Abb. 13 b Ausschnitt einer Randblastomere.
Das Plasmalemm dringt mit vielen Mikrovilli (MV)
in die Zona pellucida (ZP) vor, wobei die deut-
lich verdickten Membranen der Mikrovilli mög-
licherweise proteolytische Fermente tragen und
den enzymatischen Abbau der Zona beginnen.
Die zahlreichen Mikropinocytosebläschen (MPV)
transportieren die Reservestoffe in die Zelle
hinein. Im Zytoplasma verschiedene Organelle.
1 h Osmium-Fix. U/Pb.-Kontr. Epon, Vergr. 22 500 x

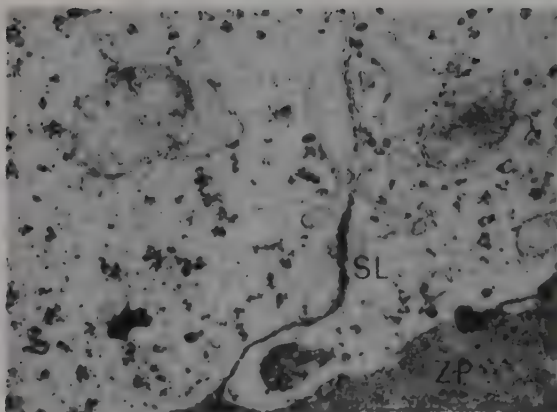
Abb. 13 c Zellgrenze von zwei äußeren Blas-
tomeren. Das Plasmalemm hat an der Basis der
beiden Blastomeren eine Schlußleiste (SL) ge-
bildet, im Verlauf der Zellgrenze Ausbildung
von einzelnen wenigen Mikrovilli (MV). Im
Interzellularspalt ein desmosomales Gebilde (D).
1 h Osmium-Fix. U/Pb.-Kontr. Epon, Vergr. 29 600 x



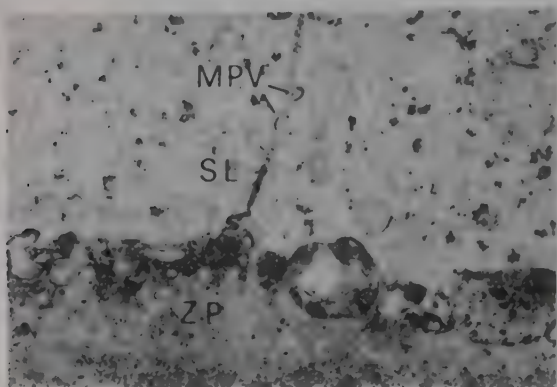
13 b



13 c



1



2

Abb. 13 d Ausschnitte aus äußeren Blastomeren. An den Basen zur Zona pellucida (ZP) der äußeren Blastomeren bildet das Plasmalemm regelmäßig Schlußeisten (SL) aus. In Bild 2 Entstehung von Mikropinozytosebläschen (MPV) vom Interzellularspalt aus.

1 h Osmium-Fix. U/Pb-Kontr. Epon, Vergr. 30 000 x

Nukleoporendiaphragma mit den Kernhüllenmembranen verschmilzt, kann man senkrecht zur Diaphragmafläche ein wenig osmiophiles Material sehen, das in das Zytoplasma reicht (Doppelpfeil). Ganz in der Nähe verbindet sich die äußere Membran der Kernhülle mit der Hüllmembran einer Dottervakuole (ER 4). Auf dem flachen Anschnitt einer Kernkuppe (Abb. 14 c) erscheinen die Nukleoporen in der Aufsicht. Einige lassen in der Mitte das dunkle Granulum auf dem Diaphragma (Pfeile) erkennen, ebenso zum Rand hin (sowohl auf der Kernseite wie auf der zytoplasmatischen Seite) einen (doppelten) Ringwulst, den Annulus (An). In der Regel sind in diesem auf jeder Seite 8 Globuli nachweisbar (4), so daß der gesamte Komplex einer Nukleopore eine achtstrahlige Symmetrie aufweist (FRANKE, 1966; GALL, 1967).

Der von der Kernhülle umgebene Raum enthält neben den Nukleolen das Grundkaryoplasma, in dem das genetische Material während der Interphase zum größten Teil entspiralisiert vorliegt. Die funktionellen Beziehungen zwischen dem DNS - Protein - Komplex, dem Chromatin und dem Kerngrundplasma sind in vivo sehr eng. Dementsprechend sind die Chromatinstrukturen sehr fein, gleichmäßig verteilt und mit dem Grundplasma gänzlich "vermischt", daß eine klare Ausdeutung des EM-Bildes nur schwer möglich ist. Nach unseren früheren Ausführungen dürften die fibrillären Strukturelemente (Abb. 6 a), die schraubig zu verlaufen scheinen, in diesen Interphase-Stadien DNP-Elementarfibrillen sein. Sie verleihen dem Kerngrundplasma ein relativ elektronendichtes Aussehen.

Eine gewisse Tendenz dazu, daß sich Chromatin entlang der Kernhülle anhäuft, ist auch in diesem Entwicklungsstadium in Intermitosekernen zu beobachten. Die funktionelle Bedeutung dieser Anordnung ist nicht bekannt.

Der Nukleolus, im frühen Morulastadium in der Einzahl, liegt in den Zellkernen in der Regel dreifach vor (Abb. 14 a). Dieses Kernorganell hat in den vergangenen 10 - 12 Stunden der Keimesentwicklung eine gewaltige, formveränderte Umwandlung vollzogen (Abb. 14 d). Während es in der frühen Morula als typischer Nukleolus dieses Entwicklungsstadiums aus einer großen Menge granulärer und fibrillärer Ribonukleoproteinelemente (RNP-Partikel) besteht, die auf engstem Raum kondensiert sind bei einem Durchmesser von ca. 1,5 μm , hat sich der Nukleolus jetzt zu einer charakteristischen Funktionsstruktur des Intermitosekerns entfaltet. Bei einem mittleren Durchmesser von 3 μm ist sein Volumen auf das Vierfache angestiegen. Im elektronenmikroskopischen Bild zeigt er einen schwammartigen Aufbau, wobei dichtere Wände durch lichtere Lakunen eines Porensystems voneinander getrennt werden (THOENES et al. 1972). Eine besondere Hüllmembran ist nicht vorhanden. Vielmehr wird er von Chromosomenfäden durchzogen, die vom umgebenden "nucleolus-associated chromatin" (CASPERSON 1950) her einstrahlen (Abb. 14 d, Ch).

Neben dieser DNS-Komponente lassen sich als nukleoluseigene vielleicht RNP- oder Proteinsubstanzen drei Strukturelemente unterscheiden (BERNHARD, 1968). Erstens eine fibrilläre Substanz, "pars fibrillaris" (Pf), deren fädige Elemente ca. 50 $\text{\AA}$ breit und bis 400 $\text{\AA}$ lang sind. Zweitens eine granuläre Komponente mit Partikeln - ca. 150 $\text{\AA}$ groß -, "pars granularis" (Pg), die den Ribosomen des Zytoplasmas ähnlich sind und womöglich deren Vorstufe darstellen. Und drittens eine amorphe Matrix von geringerer Elektronendichte, die "pars amorpha", in die die übrigen eingelagert sind und die nur gelegentlich abgebildet werden kann.

Die einzelnen Nukleolonemata, das dunkle Gerüst des schwammförmigen Aufbaues, wird sowohl von der "pars fibrillaris" als auch der granulären Komponente gemeinsam gebildet, fast einander abwechselnd. Diese "pars

granulofilamentosa" (MIYAI a. STEINER, 1967) ordnet den Nukleolus dieser 58 h Morula-Zelle als gemischten Nukleolus in die Organisationsform der Schwamm-Nukleolen ein.

c) Endoplasmatisches Retikulum

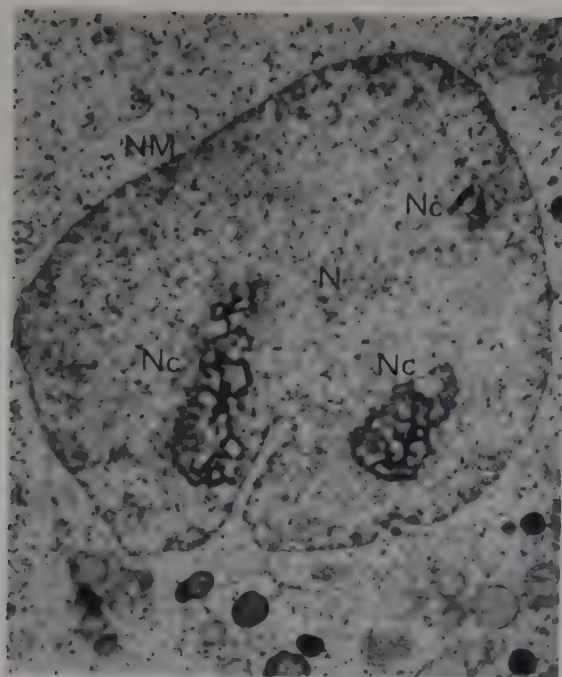
Wie in der frühen Morulablastomere sind die Vakuolen des endoplasmatischen Retikulums auch in den Blastomeren der späteren Morula (Abb. 16 a) von einer einfachen Membran umgeben, die unregelmäßig von Ribosomen besetzt ist und gelegentlich sich mit der Hüllmembran der Nachbarvakuole verbindet (↗). Mit einem Durchmesser von 1 - 1,5 μm hat sich die Größe der Vakuolen fast verdoppelt. Die Gesamtheit der ER-Vakuolen macht den Proteindottervorrat des Keimes aus. Ein rauhes endoplasmatisches Retikulum in Form eines Ergastoplasmas ist auch in diesem Morulastadium nicht zu beobachten.

d) Der Golgi-Apparat

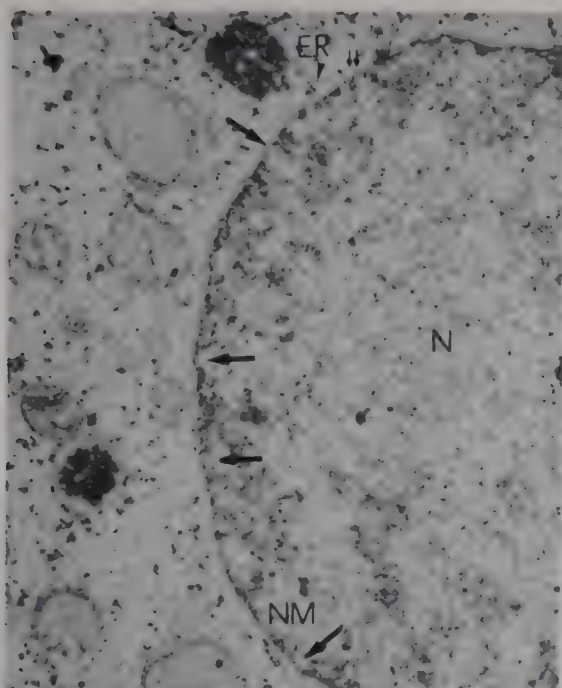
Der Golgi-Apparat ist ein Zellorganell von sehr veränderlicher Form. Er befindet sich meist in Kernnähe und besteht bei multipler Anordnung, wie es in den Zellen von Kaninchenkeimen die Regel ist, aus mehreren Golgi-Feldern (Dictyosomen). Sie bilden, nach Untersuchungen dicker Schnitte unter dem Hochspannungselektronenmikroskop gezeichnet (KRSTIC, 1976), insgesamt einen Kreis bzw. eine Kugelschale um den Kern und sind untereinander durch Röhrchen verbunden. Zahl und Anordnung der einzelnen Felder in einer Zelle können je nach deren Funktionszustand verschieden sein. Wie in Blastomeren der frühen Morula besteht das Golgi-Feld auch in der Zelle der späteren Morula aus drei Komponenten: Membranen, Vesikeln und größeren Vakuolen (Abb. 17a). Doch scheint sich das etwa 1 μm lange Organell in seiner Organisation (räumlichen Aufteilung) verändert zu haben: Die Vakuolen der Golgi-Apparate der Abb. 17 haben gegenüber denen der Abb. 9 ein kleineres Ausmaß angenommen. Das deutet auf veränderte Funktion gegenüber den Golgi-Apparaten der frühen Morula. Überdies wird ein polarer Aufbau sehr deutlich (ADAMS a. HERTIG, 1964; MOLLENHAUER et al., 1963; SASSEN, 1965; SIEVERS, 1965; CUNNINGHAM et al., 1966).

Abb. 14 a Kern einer äußeren Blastomere.
Der Kern ist rund bis oval und zeigt außer
einer tiefen Invagination eine glatte Ober-
fläche. Kern (N), Kernhülle (NM), 3 Nukleolen
(NC). Im Zytoplasma verschiedene Organelle.
1 h Osmium-Fix. U/Pb-Kontr. Epon, Vergr. 14 000 x

Abb. 14 b Querschnitt durch den Kern einer
äußeren Blastomere. Die Kernhülle (NM) ist
regelmäßig von Kernporen (↗ im Kern(N)) durch-
setzt. Die Kernpore ist von einem Diaphragma
überspannt, das in der Mitte ein dunkles Gra-
nulum trägt (↗). Von der Kernpore reicht dunk-
les osmiophiles Material in das Zytoplasma
(Doppelpfeil). Die äußere Membran der Kern-
hülle verbindet sich mit der Hüllmembran einer
ER-Vakuole (ER, Pfeilkopf).
1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr. Epon, Vergr. 22 750 x



14 a



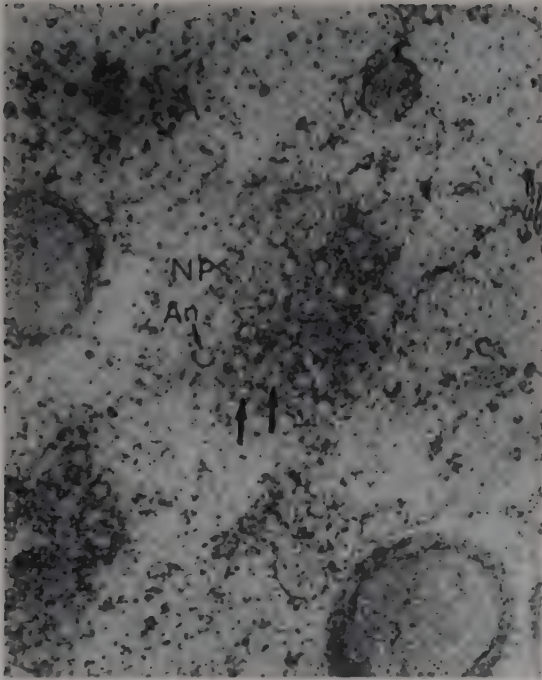
14 b

Abb. 14 c Auf dem Flachschnitt eines Kerns sieht man die Nukleoporen (NP) in der Aufsicht. Als dunkler Punkt tritt in der Mitte das zentrale Granulum auf dem Diaphragma (Pfeile) hervor. Zum Rand hin sind osmiophile Verdichtungen, der Annulus (An $\nearrow$), sichtbar.

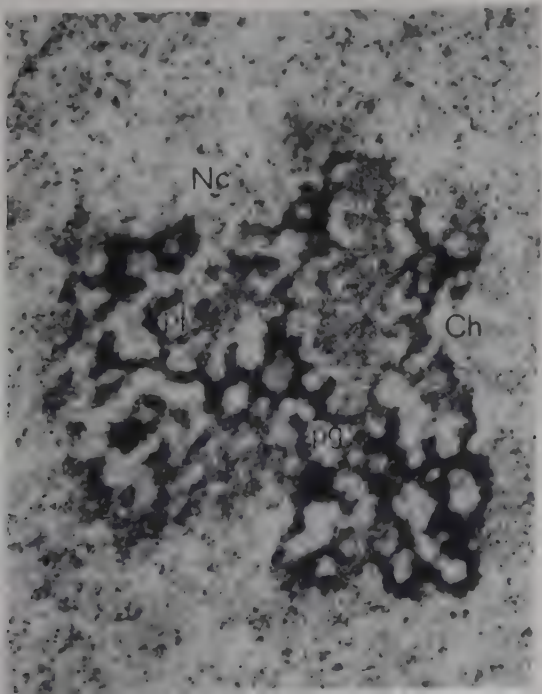
1 h Osmium-Fix. U/Pb-Kontr. Epon, Vergr. 40 000 x

Abb. 14 d Der Nukleolus (NC) hat sich zu seiner Funktionsform entwickelt. Er besteht aus 3 eigenen Komponenten: der "pars fibrillaris" (pf), der "pars granularis" (pg) und der "pars amorpha" (auf dem Bild nicht sichtbar), die mit den beiden anderen eng vermischt ist. Der Nukleolus wird von Chromosomenfibrillen durchzogen, die vom nahen Chromatin (Ch) her einstrahlen.

1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 32 000 x



14 c



14 d

Ein System von etwa 6 - 7 dichtgepackten, glattwandigen, an den Enden geschlossenen Membranen bildet an den beiden Flachseiten unterschiedliche Strukturen aus. Während auf der einen Seite überwiegend Vesikel abgeschnúrt werden, "Sekretionsseite", läßt die andere meistens unvollständige Zisternen erkennen, "Regenerationsseite" (Abb. 17 a, G 1). Dabei sind die Zisternen auf der Regenerationsseite höher als auf der Sekretionsseite, die oft für die Vesikulation mit Enzymen ausgestattet ist (FRIEND a. FARQUHAR, 1967). Die Regenerationsseite des Golgifeldes liegt häufig einer leeren Vakuole des glatten ER an (/). Die Membranen der Golgi-Zisternen sind einfach. Von der Regenerationsseite zur Sekretionsseite hin nehmen sie an Dichte und Stärke zu. Sie sind bei der Bildung von Golgi-Vesikeln durch hohen Kontrast gekennzeichnet. Gleichzeitig entsteht im Zentrum eine elektronendichte Substanz, die den freien Vesikel ganz ausfüllt. Die Golgi-Vesikel unterscheiden sich in Größe und Dichte und scheinen mit den Lysosomen (Ly) funktionell in Beziehung zu treten (Abb. 17 a, Ly). Offensichtlich steht auch in diesem Entwicklungsstadium der Golgi-Apparat ganz im Dienste der Synthese, Kondensation und Formung von Sekretprodukten, vermutlich von hydrolytischen Fermenten. Dies wird durch einen ultrahistochemischen Reaktionsnachweis zu klären sein.

e) Lysosomen

Mit dem gleichen Vorbehalt ordne ich hier, wie S. 37 f eine Organellengruppe ein, die auf elektronenmikroskopischen Aufnahmen von Dünnschnitten durch Morulablastomeren sich von den übrigen Organellen durch ihre auffallende Elektronendichte unterscheidet (Abb. 10 a - d, 18 a). Auf Grund ihrer morphologischen Merkmale habe ich sie S. 37f als Lysosomen bezeichnet (Christ. KRAUSKOPF: Cytosomen). Je nach Funktionszustand stellen sie sich verschieden dar und variieren in Dichte und Größe, wie es aus den Abbildungen hervorgeht.

Möglicherweise enthalten diese Kompartimente das von den Golgi-Vesikeln herantransportierte Produkt des Golgi-Apparates. Es würde in den Lysosomen gespeichert werden oder unmittelbar in das intrazelluläre digestive System einfließen und könnte, z. B. bei der Aufbereitung des Protein-Dotters für die Ernährung des Keimes wichtig sein.

f) Mitochondrien

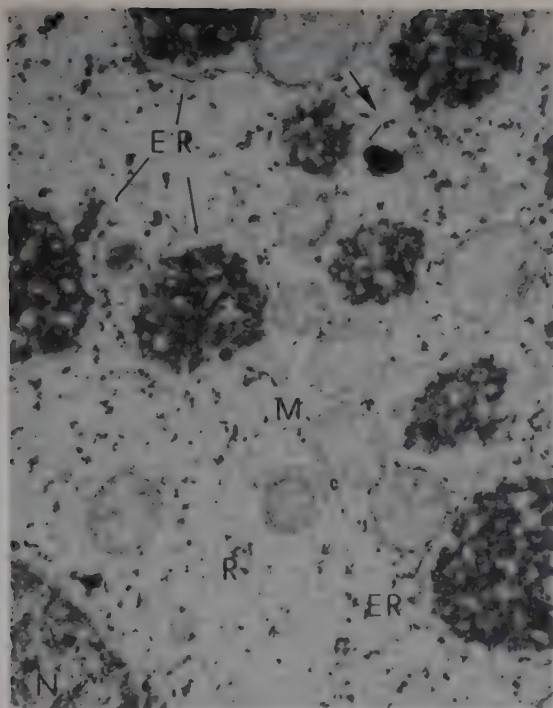
Bei der vergleichenden Beschreibung der Mitochondrien aus einer frühen 45 Std.-Morulazelle habe ich, abweichend vom Typus-Bild des Mitochondrions, eine Form darstellen können, die ich als "Zwiebelschalentypus" für Morulamitochondrien als charakteristisch ansehe. Sie zeichnet sich durch vielfache, konzentrische Ausbildung der inneren Mitochondrienmembran aus (Abb. 11). Vergleicht man mit diesen die Mitochondrien der 58-Stunden-Morula (Abb. 19 a, 1 u. 2), so kann man die aufgezeigte charakteristische Doppelschale noch feststellen. Allerdings scheint sich zugunsten einer eigenen sehr ausgeprägten Cristaebildung (Abb. 19 a, 2) die vielfache konzentrische Anlage der Mitochondrienmembran zurückzubilden (Abb. 19 a, 1). Im ganzen sind die Mitochondrien Abb. 19 größer als diejenigen von Abb. 11. Auch im Innenraum ist die Mitochondrienmatrix kaum merklich lichter geworden, so daß dunkle Granula, die eventuell mitochondriale Ribosomen sind, gegen die Umgebung sich gerade eben abheben (Abb. 20 b).

g) Ribosomen

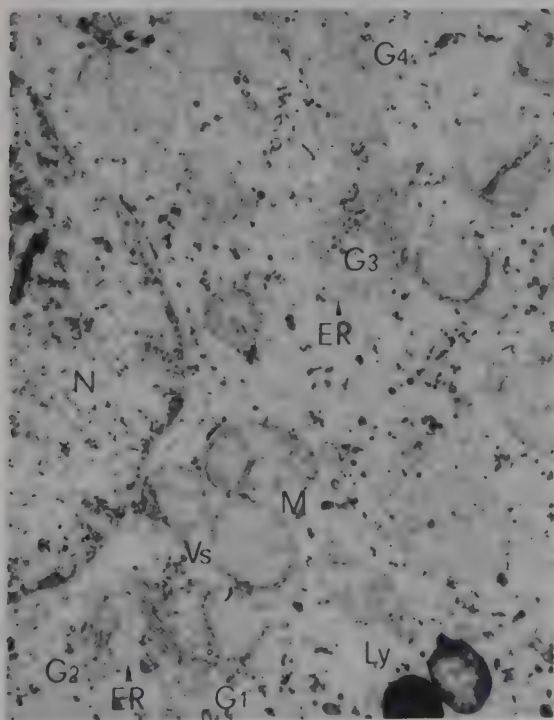
Die Ribosomen, die in der frühen Morula in den verschiedenen äußeren Blastomeren als Einzelpartikel vorliegen sowie als Polysomen kurze kettenförmige oder rosettenartige Komplexe bilden oder zu größeren Polysomenketten im Zick-Zack-Muster aggregieren, zeigen in den Zellen der späteren Morula diese vielfältigen Kombinationen nicht mehr. Wie auf dem elektronenmikroskopischen Bild zu sehen ist (Abb. 20 a), liegen sie sowohl als Einzelpartikel (R) vor als auch in rosettenähnlichen Komplexen (rR), bilden aber überwiegend unregelmäßige lange Ketten, an die die einzelnen

Abb. 16 a Vakuolen des ER (Dottervakuolen). Sie haben mit einem Durchmesser von 1 - 1,5 μ m ihre Größe verdoppelt. Gelegentlich fließen die Hüllmembranen benachbarter Vakuolen zusammen ($\nearrow$). Oft sind sie unregelmäßig mit Ribosomen (R) besetzt. Kern (N), Mitochondrien (M) und Ribosomen im Zytoplasma.
1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr. Epon, Vergr. 20 000 x

Abb. 17 a Golgiapparat
Einige Golgi-Felder (G1-G4) eines multiplen Golgi-Apparates. Deutlich ist an G1 der polare Aufbau zu erkennen: rechts oben die Sekretionsseite mit Golgi-Vesikel (Vs) in verschiedener Größe. Auf der Regenerationsseite unvollständige Zisternen und "leere" Vakuole des glatten endoplasmatischen Retikulums ($\nearrow$), Lysosomen (Ly) in Golginähe, N Kern, M Mitochondrien.
1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr. Epon, Vergr. 25 000 x



16 a



17 a

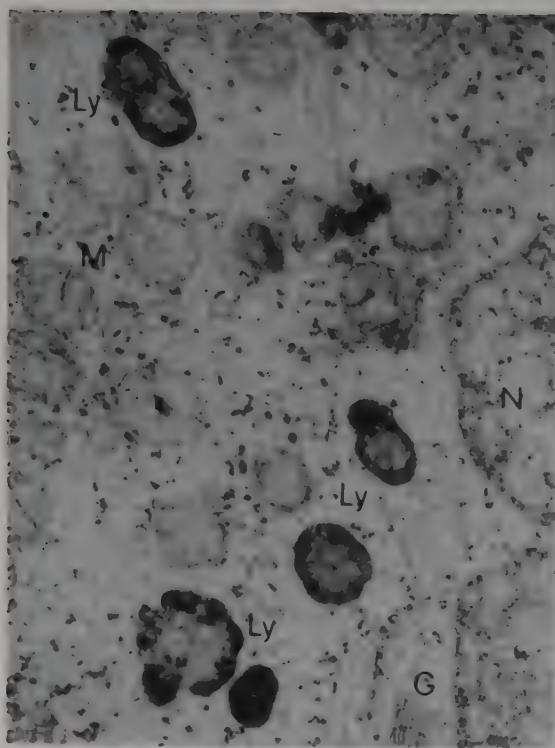


Abb. 18 a Lysosomengruppe (Ly) aus einer Morula (58 h p.c.).

Die Variabilität der einzelnen Organelle geht aus der Abbildung hervor: Der Inhalt der Kompartimente ist entweder nahezu homogen und dunkel, oder dunkle Zonen, überwiegend randständig, schließen hellere Bezirke ein, die aus fädig-granuliertem Material bestehen und unterschiedlich kondensiert sein können. Kern (N), Golgi-Feld (G) und Mitochondrien (M).

1 h Osmium-Fix. U/Pb-Kontr. Epon, Vergr. 28 000 x

Ribonukleoproteidpartikel scheinbar regellos angehäuft werden. Auch innerhalb der Mitochondrien kommen Ribosomen vor. Zugleich erscheint die Mitochondrienmatrix in diesem Stadium der Keimesentwicklung aber weniger dicht zu sein als auf Abb. 19. So bezeichne ich die auf der vergrößerten EM-Aufnahme Abb. 20 abgebildeten dunklen Granula des Mitochondrions als mitochondriale Ribosomen (mt R $\nearrow$). Sie liegen einzeln weit verteilt in der Mitochondrienmatrix und sind kleiner und weniger dicht als die im Zytoplasma sichtbaren Ribosomen (Abb. 20 b).

2. Innere Blastomeren

Auf einem Schnitt durch eine 58-Stunden alte Kaninchenmroula liegen etwa 12 Randblastomeren der Zona pellucida dicht an und bilden einen Raum, in dem 10 innere Zellen vollkommen von ihnen eingeschlossen werden (Abb. 13 a). Die äußeren Zellen buckeln sich nach innen leicht vor. Dagegen sind die inneren Zellen von runder bis rund-ovaler Form und bilden unter sich und den äußeren Zellen gegenüber einen eigenen Verband. Bei den äußeren Blastomeren besteht enger Verbund zur Zona (Abb. 13 cd, Mikrovilli und Mikropinocytosebläschen) und ebenso gegenseitig (Abb. 13 a, Verschlußleisten). Die Zellen bilden eine feste, dicht geschlossene Schicht (Abb. 13 a), deren Basis fest an die Zona p. anschließt, deren Apex frei an das Blastozystenlumen angrenzt. Die inneren, eine zum eigenen Zentrum jeder Zelle orientierten Oberflächenschicht ohne Mikropinocytosebläschen und ohne Schlußleisten, mit nur gelegentlichen langen Mikrovilli; Unterschiede in Bewegungstätigkeit und Nährverfahren, die im früheren Stadium 45 h p.c. noch nicht klar herauskamen. Des weiteren würde man sich über die Verursachung dieser Plasmalemm-Unterschiede von äußeren und inneren Blastomeren Gedanken machen können. Man wird an die Verhältnisse innerhalb der Amphibien-Gastrula erinnert, bei der (SEIDEL, 1975, S. 132 f) nach Holtfreter ein Gefälle von Oberflächenspannungsgerade zu verzeichnen ist, die vom äußeren Medium aus in Richtung Furchungshöhle hin absinkt. So könnte (vorbehaltlich späteren Nachweisen) die Oberflächenspannung

infolge Ionenvermehrung nach der Blastozystenhöhle hin zunehmen und das unterschiedliche Verhalten der Blastomeren außen und innen bedingen. Auch die Verhältnisse der ev. unterschiedlichen Glycocalyx-Bildung (vgl. S. 60) wären hier genauer zu prüfen.

Im ganzen wird man die Verhältnisse bei den inneren Blastomeren auf ihre einseitig gerichtete Ansammlung innerhalb der Blastozystenhöhle wohl im Zusammenhang mit der Konstitution der äußeren Blastozystenellen sehen müssen. DENKER (1970) kommt auf ganz anderen Wegen zu vergleichbaren Schlußfolgerungen.

Während die äußeren Zellen um den Kern herum oder zum äußeren Rand hin eine Organellenhäufung zeigen können, sind in den inneren Zellen die Organellen fast gleichmäßig um den Kern über das Zytoplasma verteilt. Insgesamt scheinen die inneren Zellen an Organellen ärmer zu sein (Abb. 21 a). Der Vergleich der Kernbilder sowie die Entwicklung der Nukleolen lassen einen Unterschied zwischen äußeren und inneren Zellen nicht erkennen.

3. Ergebnisse des Kapitel V

a) Plasmalemm. Das Plasmalemm bildet spezielle Strukturen aus:

- 1.) Bei den äußeren Blastomeren eine Menge kurzer sehr aktiver Mikrovilli und hin zum Zytoplasma der Nachbarzellen eine große Zahl Mikropinocytosevesikel als Ausdruck einer vermehrten Stoffaufnahme der Blastomere.
- 2.) Zu den äußeren Nachbarblastomeren in der Regel am unteren Teil eine Schlußleistenstruktur, die einmal einen sehr engen Kontakt der Randblastomeren untereinander, zum anderen wohl eine Einrichtung zur Kontrolle der Stoffaufnahme ins Blastomereninnere darstellt. Diese Stoffaufnahme aus dem Interzellularraum erfolgt über desmosomale Strukturen und Pinozytosevesikel.
- 3.) Zu den inneren Blastomeren hin fehlen allgemein

Mikrovilli und Mikropinocytosebläschen. Die Pelli-
kula verläuft glatt, die inneren Blastomeren lassen
nur geringe Zufuhr der Nahrungsaufnahme aus der
Blastozystenhöhle erkennen. In ihren Bewegungs-
tendenzen bleiben sie unabhängig. An einigen Stellen
beginnt Ausrichtung einer Glykokalyx (cell coat).
Durch sie können selektiv Stoffe in den Inter-
zellularraum abgegeben oder von dort aus aufge-
nommen werden. Sie erhöht aber auch die Konsolidierung
der inneren von den äußeren Blastomeren und fördert
unabhängig eingeleitete Gestaltungsbewegungen.

b) Der vordem vielfach gelappte Kern hat sich in seiner
äußeren Form abgerundet. D.h. er ist von einer hochaktiven
Phase in einen "normalen" Status übergegangen. Auch die
Kernhülle zeigt Kriterien einer etwas gemäßigten Aktivität
(Abb. 14 a, b gegenüber 4 a).

Bei weitem die größte strukturelle Änderung hat der Nukleolus
vollzogen: Anstelle einer völlig inaktiven Struktur hat
er eine hochaktive Funktionsstruktur entwickelt (ein-
setzende r-RNS-Synthese). Er zeigt einen schwammartigen
Aufbau mit pars fibrillaris, pars granularis und pars
amorpha.

c) ER, Vakuolen: Größe verdoppelt. Hier größer als Mito-
chondrien.

d) Der Golgi-Apparat zeigt eine polare Organisation mit
einer Sekretionsseite und einer Regenerationsseite. Auf der
Sekretionsseite werden Golgi-Vesikel gebildet und mit dem
Sekretionsprodukt abtransportiert. Auf der Regenerationsseite
die häufig einer leeren Vakuole des glatten ER anliegt (S.67f),
baut sich aus den Membranen des glatten ER das Kompartiment
immer wieder neu auf. Gegenüber den Verhältnissen in der
frühen Morula sind die Vakuolen kleiner geworden. Das deutet
möglicherweise auf eine veränderte Funktion hin (s. S. 67 f).

e) Die Mitochondrien beginnen durch Cristabildungen die
Kompartimentierung zu ändern. Auch ist die Matrix weniger
elektronendicht. Dies weist auf eine Änderung im Modus
der Energiegewinnung hin. - Mitochondriale Ribosomen!

f) Ribosomen zeigen hier eine verarmte Konfiguration.

g) Charakterisierung äußere und innere Blastomeren -

Unterschied im Plasmalemm: s.S. 77 - u.a. in der Furchungs-

Abb. 19 a Mitochondrien (M) aus einer 58-Stunden-Morula. Zugunsten einer beginnenden Cristaebildung (2) scheint sich die vielfache, konzentrische Anlage der inneren Mitochondrienmembran zurückzubilden (1). In der etwas weniger dichten Mitochondrienmatrix zeichnen sich dunkle Granula, eventuell mitochondriale Ribosomen (mt R $\nearrow$), gegen die Umgebung ab.

1 h Osmium-Fix. U/Pb-Kontr. Epon, Vergr. 50 000 x

Abb. 20 a Ribosomen (R) im Zytoplasma einer 58-Stunden-Morula-Zelle.

Die Ribosomen liegen teils als Einzelpartikel ($\nearrow$), teils in rosettenartigen unregelmäßigen Komplexen (rR) oder bilden überwiegend lange Ketten von scheinbar regellos angehäuften Ribosomen (R).

1 h Osmium-Fix. U/Pb-Kontr. Epon, Vergr. 80 000 x

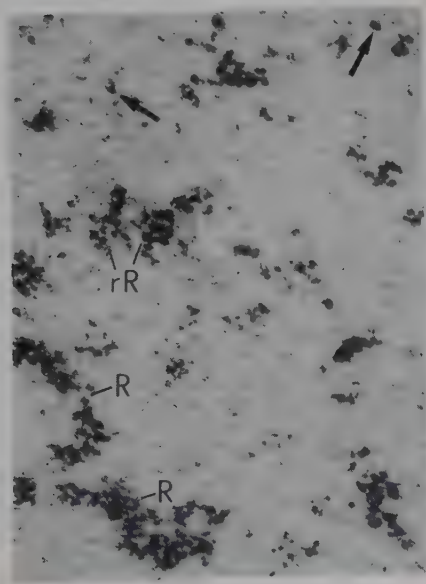
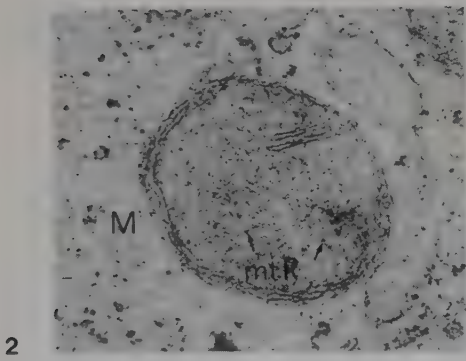
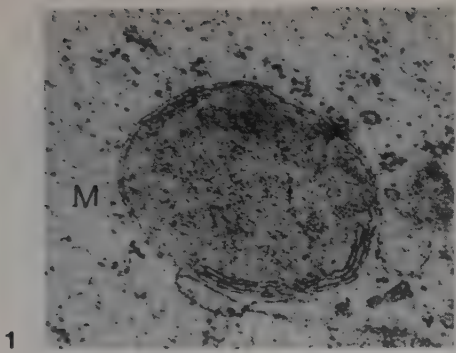
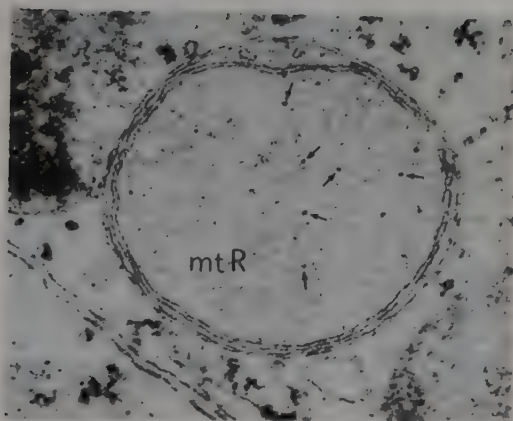


Abb. 20 b Ribosomen in einem Mitochondrion (mt R) aus einer 58-Stunden-Morula. In der lichtereren Matrix des Mitochondrions heben sich deutlich einzelne dunkle Granula (/) gegen die Umgebung ab. Sie sind weniger dicht und etwas kleiner als die Ribosomen des Zytoplasmas.
1 h Osmium-Fix. U/Pb.-Kontr. Epon, Vergr. 60 000 x

Abb. 21 a Innere Blastomeren einer späten 58-Stunden-Morula (Ausschnitt aus Abb. 13 a). Auf der Abbildung ist ein Anschnitt der inneren Zellen dargestellt: Oben und rechts oben: Äußere Blastomeren (aZ). Mitte, links und rechts unten: Innere Zellen (iZ) nicht so nahe zusammengeschlossen wie die Äußeren. Lücken mit wenig Mikrovilli. Kern (N), Nukleolus (NC), Endoplasmatisches Retikulum (ER), Lysosom (Ly), Mitochondrien (M) und Ribosomen (R).
1 h Osmium-Fix. U/Pb.-Kontr. Epon, Vergr. 5 625 x



20 b



21 a

höhle leichte Polarisierung der Lückenbildung

Abb. 13 a - gleichmäßige Verteilung der Organellen,
aber weniger an Zahl (S. 77). (weniger Eiweiß? wie KRAUS-
KOPF u. SEIDEL 1960 folgern).

VI Untersuchungen an Kaninchenkeimen
im Stadium der frühen Blastozyste
72 h p.c.

In der späten Morula schon war eine unterschiedliche Tendenz von äußeren und inneren Zellen hinsichtlich ihres Zusammenhaltes erkennbar: die äußeren Zellen waren durch besondere Ausbildungen des Plasmalemmas durch vermehrte Mikrovillusbildung einmal mit der Zona pellucida verankert. Andererseits standen sie untereinander durch schlußleistenähnliche Komplexe in festem Verbund. Die inneren Zellen bildeten demgegenüber nur ein lockeres Gefüge. Erste Anzeichen waren sichtbar, daß sich die äußeren Blastomeren den inneren gegenüber durch einen cell-coat abschlossen.

Durch Ausweitung der Lücken zwischen den Morulablastomeren wird die Entstehung der Blastozyste (Abb. 22) eingeleitet (STEGNER 1967). Deutlich tritt ein zellfreier Raum, die Blastozystenöhle (BC) hervor. Der eine Seite der Blastozystenöhle ausfüllende Embryoblast (EB) ist in diesem Schnitt in 10 Zellen getroffen. 17 Trophoblastzellen umhüllen auf dem Schnitt beides und liegen nach außen hin der Zona pellucida (ZP) dicht an. Die Zona pellucida besitzt noch ihre ursprüngliche Stärke und wird von der Mucoproteidschicht (MP) umgeben. Der gesamte Keim hat gegenüber der späten Morula kaum an Volumen zugenommen und besitzt einen Durchmesser von fast 0,5 mm (vgl. SEIDEL 1960, Normentafel: Zeile 12 und 13).

Bei diesem fast gleichbleibenden äußeren Umfang des Kaninchenkeimes im frühen Blastozystenstadium wird als Differenzierungsvorgang die Lageverschiebung der inneren Zellen sichtbar. Die während der Zuordnung der Zellen wirksamen Kräfte und Mechanismen sind noch unbekannt. Man kann aber aus der geringen Zunahme der auf dem Schnitt gezählten äußeren Trophoblastzellen und der zunächst konstant bleibenden Zahl der inneren Embryoblastzellen schließen, daß "die Teilungsrate der präsumptiven Embryonalzellen niedriger als die der peripher verlagerten, kleineren und sich abflachenden Trophoblastzellen ist". (STEGNER 1965).

1. Trophoblastzellen

Die Trophoblastzellen der frühen Kaninchenblastozyste (Abb. 22) sind je nach Anschnitt und Lage teils von gedrungener, zylindrischer Form und mit ihrem apikalen Teil in die Blastozystenhöhle vorgewölbt (Abb. 22 u. 23 a). Dort, wo sie die kugeligen Embryoblastzellen als Hüllschicht umschließen (Abb. 22 b, 23 b), besitzen sie teils kubische, teils abgeflachte Form. Mit ihren basalen Abschnitten liegen sie der Zona pellucida dicht an. Sie sind allseits von einer geschlossenen Zellmembran, dem Plasmalemm, umgeben.

a. Plasmalemm

Das basale Plasmalemm (Abb. 24 a, PL) der Trophoblastzellen bildet kurze, blasig aufgetriebene Mikrovilli (MV) von wechselnder Größe, die in die Zona pellucida (ZP) eindringen und unterschiedlich fein granuliertes Material enthalten. Auf dem abgebildeten basalen Abschnitt von drei aneinandergrenzenden Trophoblastzellen ist die Stoffaufnahme durch Pinocytose nicht unmittelbar deutlich. Etwas tiefer im Zytoplasma der Zellen sind jedoch Mikropinocytosevesikel (MPV) einzeln oder in kleinen Gruppen nahe den seitlichen Zellgrenzen zu erkennen. Zu den Nachbarzellen hin treten an der Basis "Schlußeisten-Komplexe" (SL) hervor, wie sie in der frühen Morula nur gelegentlich in der späten Morula regelmäßig als Abschnitte von besonders engen lateralen Kontakten benachbarter Zellen beobachtet wurden. Die Trophoblastzellen dieser frühen Blastozyste sind durch die speziellen morphologischen Ausprägungen des Plasmalemmes basal wie auch lateral zu einem festen Verband zusammengefügt.

Die Membranen aneinandergrenzender Trophoblastzellen (Abb. 24 b), auf weite Strecken glatt und parallel ausgerichtet, bilden vielfach flache Spalten oder Ausweitungen, welche in diesem Stadium oft einzelne länglichrunde Vakuolen (V) unterschiedlicher Größe mit einem feinen, granulären Inhalt einschließen. Dies können Anschnitte einzelner, in den Inter-

zellularspalt hineinragender Mikrovilli sein oder sie können Transportvakuolen darstellen, da sie auch dicht unter der Zelloberfläche im Zytoplasma zu sehen sind. Außerdem werden vom lateralen Plasmalemm wesentlich kleinere und dichtere Mikropinocytosevesikel (Abb. 24 b, MPV) abgeschnürt, das morphologische Substrat interzellulärer Stofftransportvorgänge.

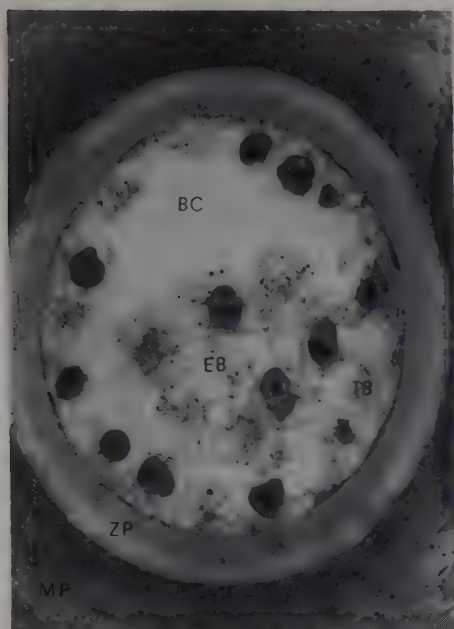
Auf der apikalen Seite der Trophoblastzelle (Abb. 24 c), die den Embryonalzellen gegenüberliegt und sich in die Blastozystenhöhle und die darin befindliche Blastozystenflüssigkeit vorwölbt, hat das Plasmalemm wie schon in der späten Morula (S. 60) eine Glykokalyx ausgebildet. Sie läßt sich bei der verwendeten Osmium-Fixierung nicht spezifisch darstellen, doch ist sie an verschiedenen Stellen als eine zusätzliche, stoffliche Auflage der Membranaußenseite zu erkennen (Abb. 24 c dünne Pfeile).

b) Kern

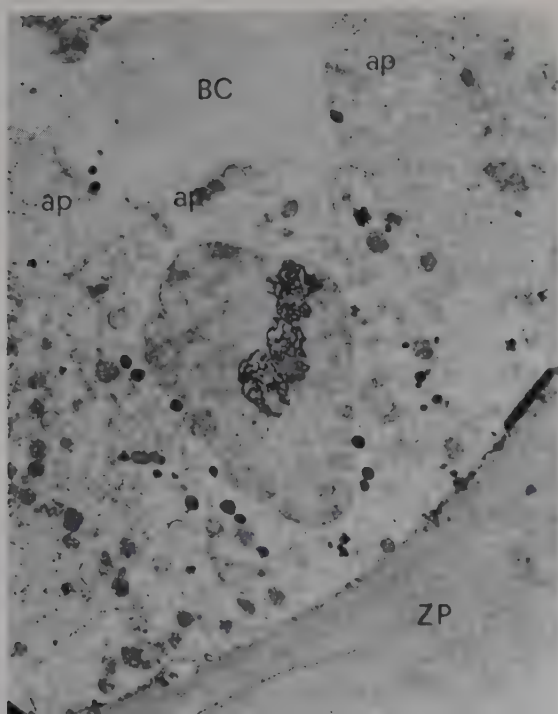
In der Trophoblastzelle einer frühen Blastozyste ist der Kern (Abb. 25 a) im allgemeinen geringfügig basalwärts verlagert. Im Gegensatz zu der zugehörigen Zelle, die ja kleiner geworden ist, scheint er nicht wesentlich an Volumen eingebüßt zu haben. Vom äußeren Umriß her vermittelt er den Eindruck einer fortschreitenden Harmonisierung; er ist weitestgehend abgerundet. Die tiefen Invaginationen der Morulastadien sind bis auf wenige angedeutete Einbuchtungen verschwunden. Die Kernhülle (Abb. 25 b), das für den Stoffaustausch zwischen den beiden Haupt-Reaktionsräumen der Zelle, Zytoplasma und Kern, relevante Organell, zeigt einen gleichmäßigen Verlauf der beiden Bestandteile, der inneren und der äußeren Membran. Die Tendenz zu gleichmäßiger Ausbildung der Kernhülle und zur normalen Abrundung des Kernes, wie sie schon in der späten Morula aufgezeigt wurde und in der frühen Blastozyste anhält, läßt den Schluß zu, daß auch in der Funktion eine Aktivitätsänderung in Richtung physiologischer Normalisierung des Kernstatuseintritt. Im Querschnitt durch den Kern (Abb.

Abb. 22 Lichtmikroskopisches Übersichtsbild eines 72-Stunden alten Kaninchenkeimes im frühen Blastozystenstadium. (MP) Mukoproteidschicht, (ZP) Zona pellucida, (TB) Trophoblastzellen, (EB) Embryoblastzellen, (BC) Blastozystenhöhle. 1 h Osmium-Fix., Schnittdicke 1 μ m, Epon, Methylenblaufärbung, Vergr. 723 x

Abb. 23 a Trophoblastzellen einer frühen Kaninchen-Blastozyste (72 h p.c.). Sie sind von gedrängener, zylindrischer Form und apikal (ap) in die Blastozystenhöhle (BC) vorgewölbt. Basal liegen sie der Zona pellucida (ZP) lateral den Nachbarzellen dicht an. 1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 5 000 x



22



23

25 b) treten in fast regelmäßigen Abständen die Kernporen (NP) im Profil hervor. Sie sind durch Pfeilköpfe kenntlich gemacht. Ebenso können auf einem flachen Kernanschnitt (Abb. 25 c) regelmäßig die Nukleoporen (NP) beobachtet werden, wie sie im vorangegangenen Morulastadium ausführlich zur Beschreibung gelangten.

Der von der Kernhülle eingeschlossene Kernraum enthält außer dem Chromatin die Nukleolen, beide in das Karyoplasma wie eine Matrix eingebettet. Die Strukturelemente des Karyoplasmas sind, wie bereits erwähnt, fibrillärer Natur, schraubenförmig gewunden und mit einem Durchmesser unter $100 \text{ \AA}$ als Elementarfibrillen dargestellt. Da diese Strukturen DNase-sensitiv reagieren (GRUMMT 1971), handelt es sich um Komplexbildungen von DNP-Material mit karyoplasmatischen Elementen. Diese Strukturen sind auf den dargestellten Kernbildern (Abb. 25 a, b) kaum zu erkennen. Entlang der Kernhülle hat sich, teils gleichmäßig, teils schollig, Kernmaterial angelagert, das aus feinen Fibrillen besteht. Diese fibrillären Strukturen werden von ribosomenähnlichen Granula mit einem Durchmesser von $150 - 200 \text{ \AA}$ teils assoziiert, überwiegend jedoch von ihnen überdeckt beobachtet. Im ganzen erscheint das chromatische Material als mehr gleichmäßig in dem Kernraum verteilt als in früheren Stadien, in denen es stark an der Kernoberfläche gesammelt war (Abb. 14). Durch eine massenhafte Produktion von solchen granulären Partikeln und ihre vorübergehende Speicherung in den Nukleolen erscheinen die Kerne der jungen Blastozyste gegenüber früheren Stadien als elektronendichter (Abb. 25 a, b).

Die Ursache für das explosionsartige Auftreten solcher Ribosomenmassen muß man der gewaltigen Syntheseleistung des nukleolochromosomalen Komplexes während der relativ kurzen Teilungsruhe der Blastomeren in diesem Stadium des wachsenden Keimes zu schreiben. Der Nukleolus der Trophoblastzelle in der frühen Blastozyste (Abb. 25 d) hat gegenüber dem der späten Morula an Volumen vielleicht etwas zugenommen. Jedenfalls entspricht im Grundaufbau er nach wie vor der Organisationsform eines Schwamm-Nukleolus;

das dunkle schwammförmige Gerüst läßt eine gemeinsame "pars fibrillaris " (Abb. 25 d, pf) und "pars granularis" (pg) unterscheiden. Während der Nukleolus der späten Morula etwa zu gleichen Teilen aus beiden Komponenten aufgebaut war (Abb. 14 d), überwiegt nun eindeutig die "pars granularis". Dabei sind die einzelnen Partikel von der gleichen Größe wie die ribosomen-ähnlichen Granula, die den ganzen Kernraum überschwemmen. Eine dritte Komponente, die "pars amorph", die weniger elektronendicht ist, läßt sich nur unter dem Einfluß ganz bestimmter, den Stoffwechsel der Nukleolen beeinflussender Substanzen klar darstellen. Sie ist auf Abb. 25 d nicht zu beobachten.

Die erhebliche Vermehrung der granulären Komponente gegenüber der "pars fibrillaris" resultiert aus dem Arbeitsmodus des Nukleolus, der im vorliegenden Entwicklungsstadium des Säugerembryos hervortritt. Hauptaufgabe des Nukleolus ist die Synthese des proteosynthetischen Apparates der Zelle, d.h. der Ribosomen. Sie liegen als sein Produkt in diesem Stadium schon massenhaft im Kernraum vor und werden noch ständig neu gebildet. Über die Kernhülle in das Zytoplasma entlassen, nehmen sie an der Erzeugung neuer Proteine entscheidenden Anteil. Sie bedingen damit eine Änderung des Proteinmusters, was man wohl nur als ein primäres Zeichen fortschreitender Differenzierung des Keims deuten kann.

c. Endoplasmatisches Retikulum

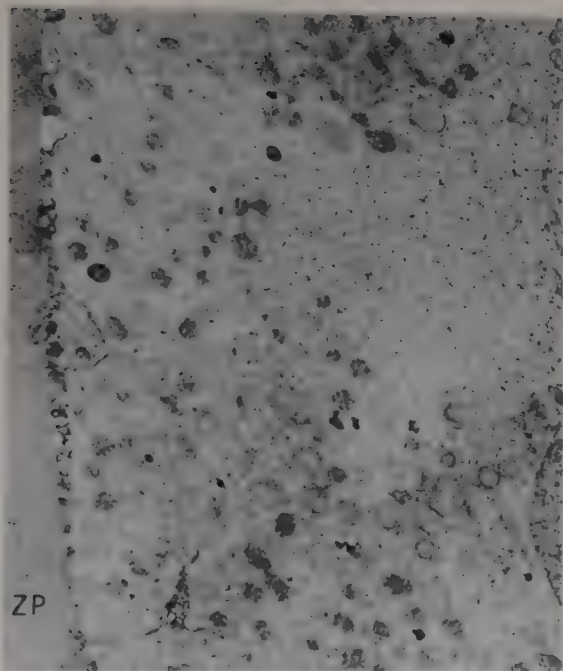
Die Vakuolen des endoplasmatischen Retikulums (ER), die von einer einfachen Membran umgeben sind und deren Inhalt (Dotter) infolge der Präparation schollig geschrumpft ist (Abb. 27 a), bilden durch Fusion mit Nachbarvakuolen relativ große membranumgrenzte Bezirke. Dabei sind die Hüllen unregelmäßig mit Ribosomen besetzt. Sie finden vielfach Anschluß an die Außenmembran von Mitochondrien. Auf der Abbildung durch Pfeile gekennzeichnet steht eine solche Vakuole des ER in Kontakt mit drei umgebenden Mitochondrien. Sind dagegen nur die Ausläufer zu den Mitochondrien angeschnitten, so daß der

Abb. 23 b Trophoblastzellen einer frühen Kaninchenblastozyste (72 h p.c.). An den Stellen, an denen sie die Embryoblastzellen (rechts und rechts unten) unterlagern, grenzen die Trophoblastzellen im apikalen Teil flach an (obere Zelle) oder schieben sich kubisch (im Bild als Dreieckschnitt) in den Zellverband ein. Basal liegen sie der Zona pellucida (ZP), lateral und apikal den Nachbarzellen eng an.

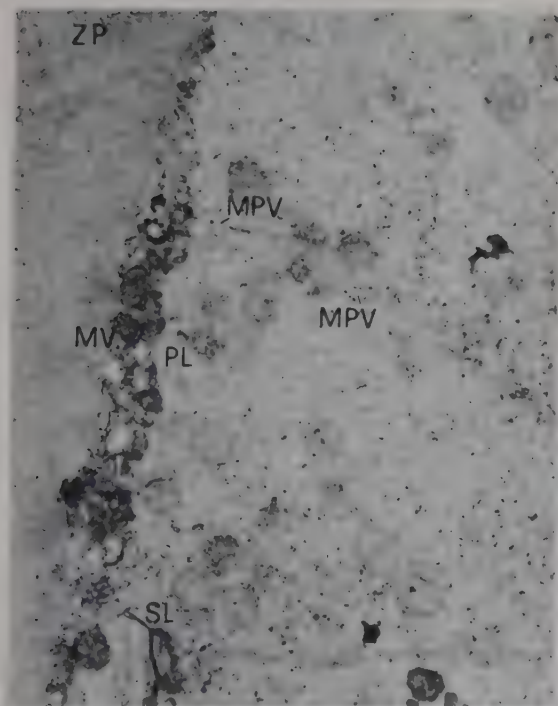
1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 7 500 x

Abb. 24 a Basales Plasmalemm (PL) einer Trophoblastzelle (72 h p.c.). In Form kurzer, blasenartiger Mikrovilli (MV) von wechselnder Größe und unterschiedlich gefüllt mit fein granulärem Inhalt wird eine feste basale Verankerung in der Zona pellucida (ZP) erreicht. Lateral sind in Basisnähe die Nachbarzellen durch "Schlußleistenkomplexe" (SL) miteinander verkittet. Basal und lateral einige Mikropinocytosevesikel (MPV).

1 h Osmium-Fix., U/Pb.-Kontr. Epon, Vergr. ca 10 000 x



23 b



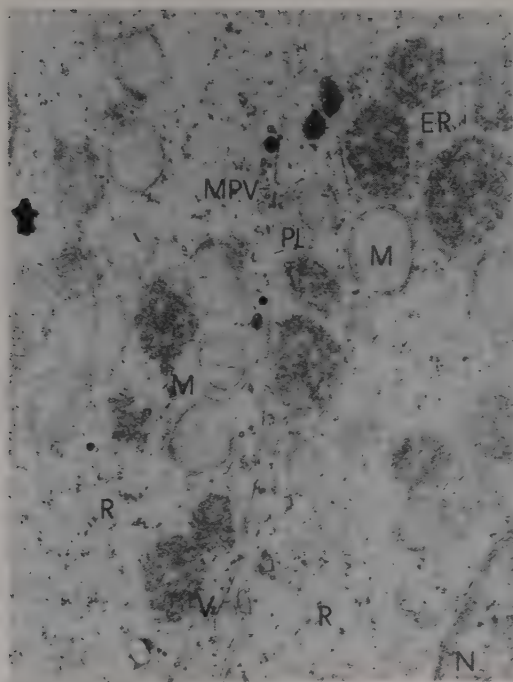
24 a

Abb. 24 b Seitliche Zellgrenzen (PL) benachbarter Trophoblastzellen aus einer frühen Kaninchenblastozyste (72 h p.c.) sind auf weite Strecken glatt und parallel ausgerichtet. In dem flachen Spalt befinden sich ein angeschnittener Mikrovillus und eine Vakuole (V) mit fein-granulärem Inhalt. Entlang der Zellgrenze in beiden Zellen Mikropinocytosevesikel (MPV). (N) Kern, (M) Mitochondrien, (ER) Vakuolen des glatten ER, z.T. mit Ribosomen (R) besetzt.

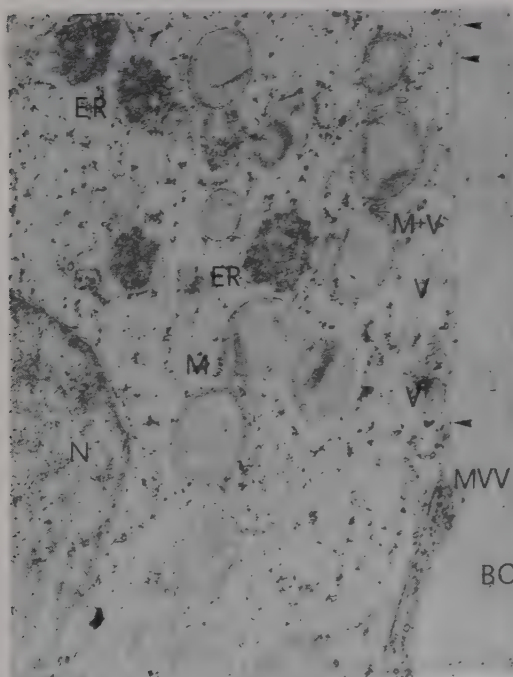
1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 13 800 x

Abb. 24 c Apikales Plasmalemm einer Trophoblastzelle der frühen Blastozyste (72 h p.c.), leicht in die Blastozystenhöhle (BC) vorgewölbt. An manchen Stellen tritt eine "Glykokalyx" (▲▲) zusätzlich als stoffliche Auflagerung der Außenseite hervor. Vakuolen (V) oder angeschnittene Mikrovilli mit fein verteiltem granuliertem Inhalt im Zytoplasma, vereinzelt in Verbindung mit einem Mitochondrium (M + V). An der Außenseite des apikalen Plasmalemmes hat sich eine Vakuole mit dichten Vesikeln gebildet (Multivesikuläre Vakuole = MVV), die hier als Transportvakuole interpretiert wird, es könnte natürlich auch ein Zellausläufer sein. Kern (N), ER und Mitochondrien (M)

1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr. Epon, Vergr. ca. 16 000 x



24 b

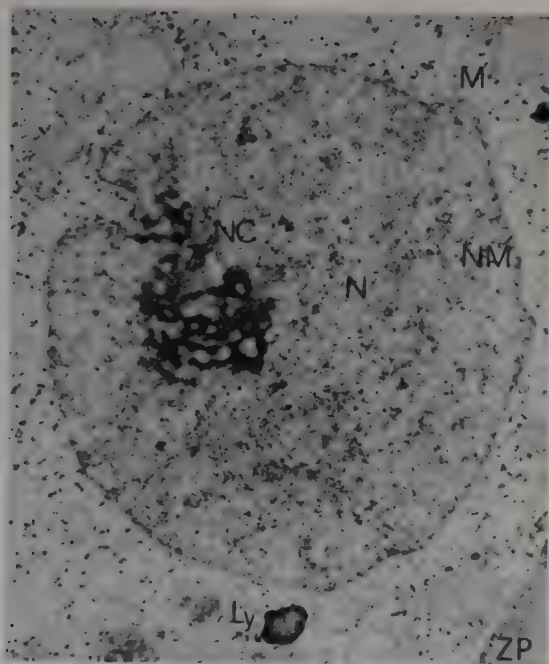


24 c

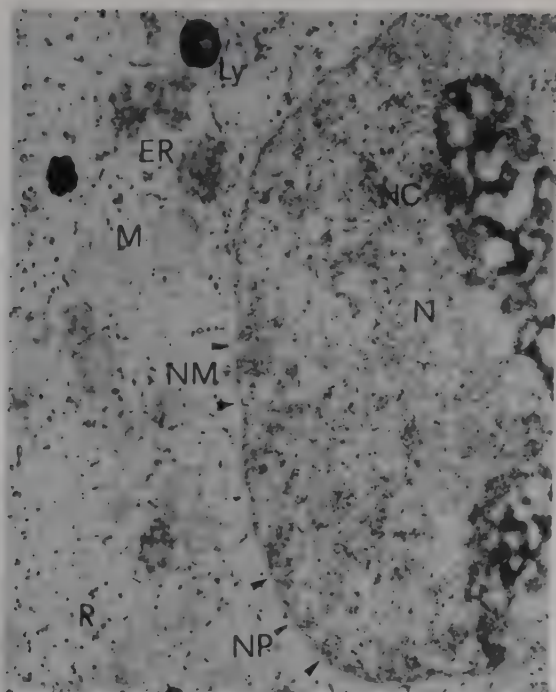
Abb. 25 a Der Zellkern einer Trophoblastzelle der frühen Kaninchenblastozyste (72 h p.c.) ist ein wenig basalwärts verlagert. Im Umriß treten nur gelegentlich leichte Einbuchtungen hervor. Der gesamte Kernraum ist massenhaft von ribosomenähnlichen Partikeln angefüllt, die gleichmäßiger als vorher (Abb. 14) verteilt sind und zusammen mit den übrigen Kernbestandteilen eine größere Dichte des Kerninneren hervorrufen. (N) Kern, (NC) Nukleolus, (NM) Kernhülle, (Ly) Lysosom, (M) Mitochondrien und (ZP) Zona pellucida
1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 12 000 x

Abb. 25 b Kernhülle (NM) am Kernausschnitt einer Trophoblastzelle. Die Kernporen (NP) sind regelmäßig ausgebildet und durch Pfeile kenntlich gemacht. Die Kernhülle (NM) zeigt einen gleichmäßigen, fast parallelen Verlauf der beiden Hüllmembranen. (N) Kern, (NC) Nukleolus, (Ly) Lysosom, (M) Mitochondrien, (ER) Endoplasmatisches Retikulum, (R) Ribosomen.

1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. ca. 16 000 x



25 a



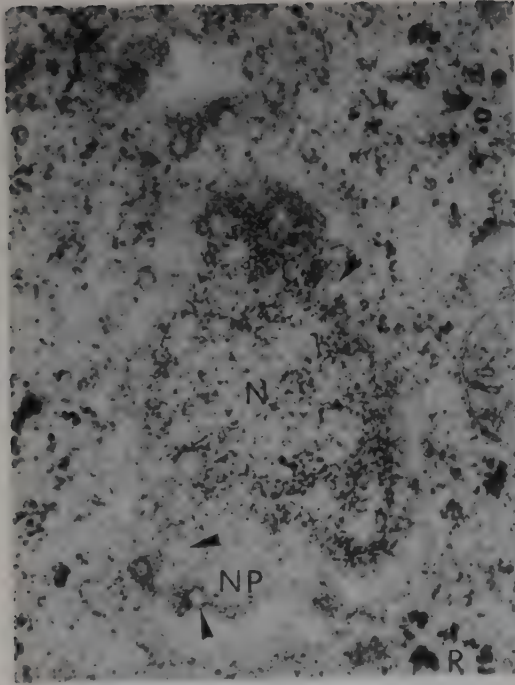
25 b

Abb. 25 c Tangentialschnitt durch die Kuppe eines Trophoblastenzellkerns. Durch Pfeilköpfe wird auf die Nukleoporen (NP) hingewiesen, die in der Aufsicht einen dunklen Ringwall zeigen und andeutungsweise in der Mitte ein dunkles Granulum. (N) Kern, (R) Ribosomen.

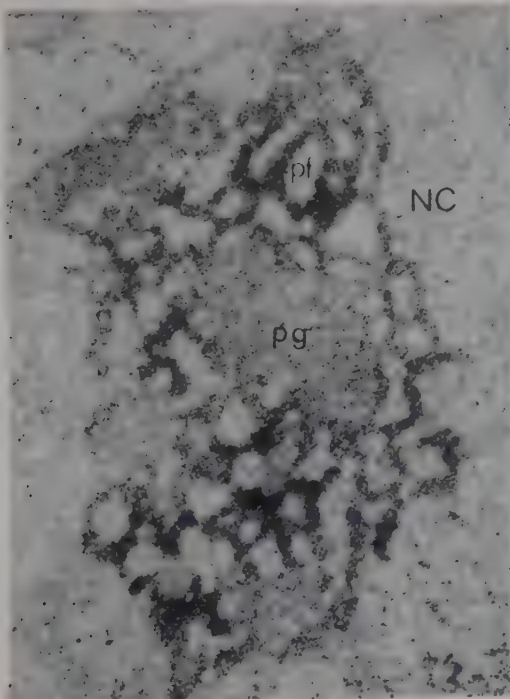
1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 60 000 x

Abb. 25 d Kernausschnitt aus einer Trophoblastzelle der frühen Kaninchenblastozyste (72 h p.c.). Die Nukleonemata, das dunkle Gerüst des schwammförmigen Nukleolus (NC), werden gemeinsam von der "pars fibrillaris" (pf) und der "pars granularis" (pg) gebildet. In diesem Nukleolusbild überwiegen eindeutig die vielen Granula, die ribosomenähnliche Größe besitzen und über den gesamten Kernraum verteilt sind.

1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 30 000 x



25 c



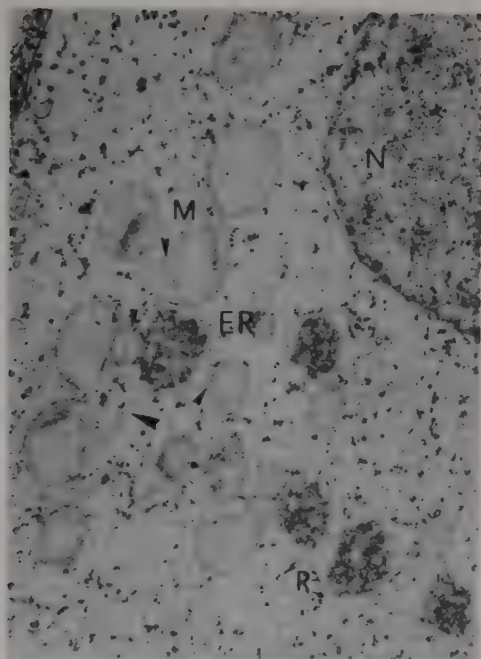
25 d

Abb. 27 a Vakuolen des endoplasmatischen Retikulums (ER), die durch Fusion der Inhalte (Dotter) zu großen membranumgrenzten Bezirken verschmolzen sind. Die Hüllmembranen sind zum Teil mit Ribosomen (R) besetzt und legen sich vielfach an die Außenmembran der Mitochondrien (M) an (Pfeile), langgestreckte spitz zulaufende Zipfel der ER-Membranen deuten möglicherweise den Übergang zu einem rauen ER an (dicker Pfeilkopf). (N) Kern.

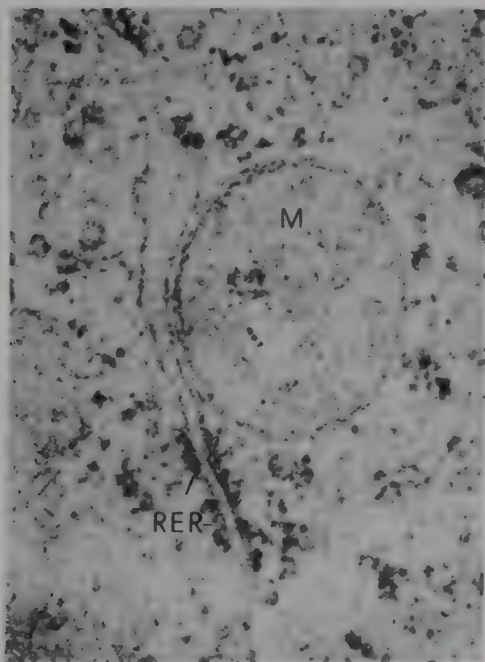
1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 16 000 x

Abb. 27 b Ausschnitt aus einer Trophoblastzelle einer frühen Kaninchenblastozyste (72 h p.c.). Der Membranausläufer einer schräg angeschnittenen ER-Vakuole, deren kondensierter Inhalt nicht abgebildet ist, legt sich streckenweise an die Außenmembran eines Mitochondriums (M) und wird an seinem freien Ende beiderseits von Ribosomen besetzt. Wie der dichte Inhalt im Intermembranraum zeigt, ist mit der Proteinsynthese begonnen. Ihr Produkt wird offenbar in dem gebildeten Innenraum der Doppelmembran abgegeben. Erste Bildung eines "rauen" ER.

1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 100 000 x



27 a



27 b

zugehörige kondensierte Inhalt nicht sichtbar ist, scheint es, als sei eine neue Population von glatten ER-Vakuolen mit einem feinverteilten granulierten Inhalt entstanden.

Die Hüllmembran der ER-Vakuolen kann sich zipfelig zuspitzen und in eine lannggezogene Doppelmembran auslaufen (Abb. 27 a, dicker Pfeilkopf). Ist sie mit Ribosomen besetzt (Abb. 27 b), bildet sie einen Übergang zu einem rauhen endoplasmatischen Retikulum (RER). Im Intermembranraum ist ein elektronendichtes Material zu erkennen, das möglicherweise das Syntheseprodukt der in die Membran integrierten Ribosomen darstellt.

d. Golgi-Apparat

Der Golgi-Apparat besteht, wie in der Beschreibung der späten Morula festgestellt wurde, im wachsenden Kaninchenkeim bei multipler Anordnung aus einzelnen Golgi-Feldern, die in der Nähe des Kerns liegen und untereinander durch röhrenförmige Ausläufer in Verbindung stehen. Auch in der Blastozyste setzt sich das einzelne Golgi-Feld (Abb. 28 a) aus drei Komponenten zusammen, die auch hier in einer bestimmten Polarität angeordnet sind: Einem System von 10 dichtgepackten, glattwandigen Zisternen lagert sich auf der einen flachen Seite eine lange hohe Vakuole des ER mit unterschiedlich dichtem Inhalt an (Regenerationsseite), Während auf der gegenüberliegenden flachen Seite eine Menge kleiner Vesikel abgeschnürt werden (Sekretionsseite). Deutlich nimmt die Dichte und Stärke der einzelnen Zisternen zur Regenerationsseite hin zu. Die abgeschnürten Vesikel zeigen unterschiedliche Größe und sind mit einer elektronendichten Substanz ausgefüllt. In der Regel sind es proteinhaltige Produkte, möglicherweise hydrolytisch wirkende Fermente, oder Polysaccharide die der Golgi-Apparat auch in tierischen Zellen synthetisieren kann. In dem Entwicklungsstadium der frühen Blastozyste scheint das einzelne Golgi-Feld an Ausdehnung etwas zugenommen zu haben. Auch ist es mit mehr Regelmäßigkeit aufgebaut. Dies läßt auf eine intensive Synthese- und Kondensations-Aktivität schließen.

e. Lysosomen

Die Lysosomen der frühen Blastozysten-Zelle (Abb. 29 a) sind wie diejenigen der Morula-Stadien runde bis rund-ovale Organellen mit einem mittleren Durchmesser von etwa 0,5 μm . Sie zeichnen sich gegenüber den anderen Organellen durch ihre außerordentlich große, doch unterschiedliche Elektronendichte aus. Im Bereich des Golgi-Feldes findet man Organellen, die einen noch weniger dichten Inhalt haben und anscheinend mit dem Golgi-Apparat funktionell in Verbindung stehen (Abb. 29 a). Zu ihrer Definition gehört, außer daß die in ihnen nachgewiesenen Enzyme hydrolytische Eigenschaften besitzen, daß sie mit einer Lipoproteidmembran gegenüber dem Grundplasma umhüllt sind. Der histochemische Nachweis wurde noch nicht geführt.

Abweichend verhält sich eine bedeutend größere dichte Vakuole (Abb. 29 b, MVB), die in eine weniger dichte Matrix eine Menge Vesikel aufgenommen hat und nur zum Teil mit einer sichtbaren Membran umgrenzt ist. Dieser Multivesikularkörper (MVB), der während der Furchung aus der Organellenpopulation verschwunden war und erstmals wieder hier in der frühen Blastozyste beobachtet wird, soll hier als morphologisch unterscheidbar dem Lysosomentyp zugeordnet werden. Er führt möglicherweise als "pinozytotisch-digestive Vakuole" Mikropinozytosebläschen der Verdauung zu, indem er Golgi-Vesikel als "primäre Lysosomen" aufnimmt, die so mit dem Substrat vereinigt werden.

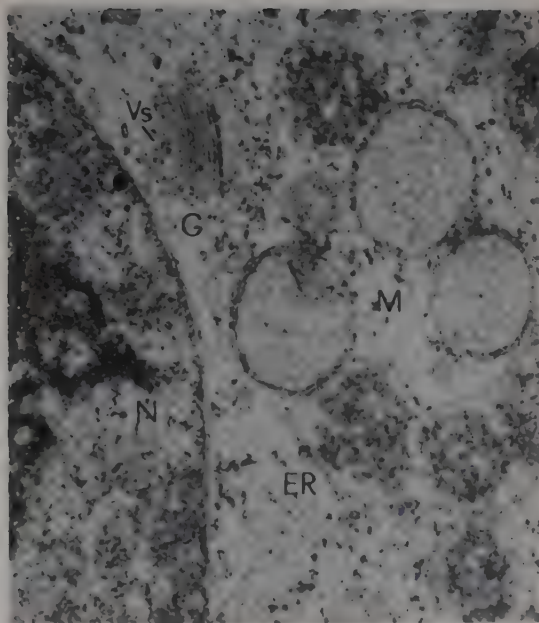
Diese über den bloßen Sammelbegriff hinausgehende differenzierte Darstellung der Lysosomen im wachsenden Kaninchenkeim bedarf einer weiteren gründlichen Klärung und histochemischen Absicherung.

f. Mitochondrien

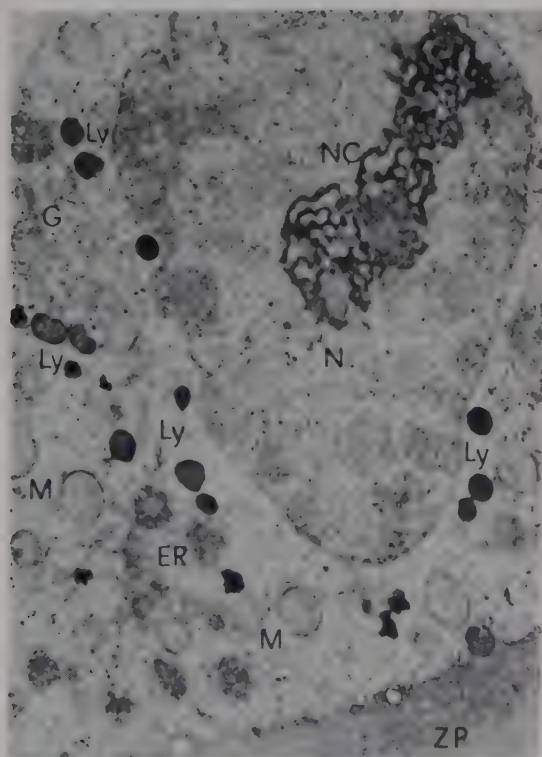
Die in der späten Morula beginnende Rückbildung der vielfach konzentrisch angelegten inneren Mitochondrienmembran zugunsten einer einsetzenden Cristaebildung kann man auch in der Zelle der frühen Blastozyste beobachten und

Abb. 28 a Golgi-Feld (G) aus einer Trophoblastzelle der frühen Kaninchenblastozyste (72 h p.c.). Ein System von 10 dichtgepackten, glattwandigen Zisternen wird auf der einen Seite, der Regenerationsseite, von einer langen und hohen Vakuole mit unterschiedlich dichtem Inhalt belegt, während die andere, die Sekretionsseite, eine Menge Golgivesikel (Vs) abschnürt. (M) Mitochondrien, (ER) Endoplasmatisches Retikulum, (N) Kern
1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 23 000 x

Abb. 29 a Lysosomen (Ly) - Übersichtsbild aus der Trophoblastzelle der frühen Kaninchenblastozyste (72 h p.c.). Die Lysosomen (Ly) stellen sich als runde bis rund-ovale Organellen mit unterschiedlich elektronendichtem Inhalt dar. Er besteht voraussichtlich aus Enzymen, die hydrolytische Eigenschaften besitzen. Die Lysosomen sind von einer geschlossenen Membran umgeben. (N) Kern, (NC) Nukleolus, (M) Mitochondrien, (G) Golgi-Feld, (ER) Vakuolen des ER und (ZP) Zona pellucida
1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 9 200 x



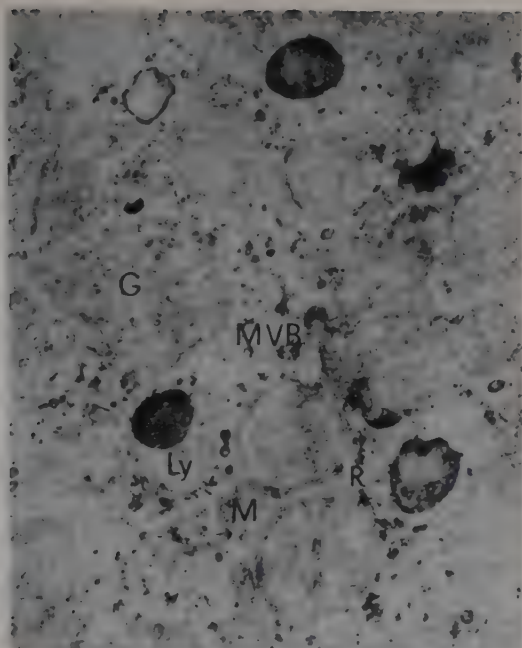
28 a



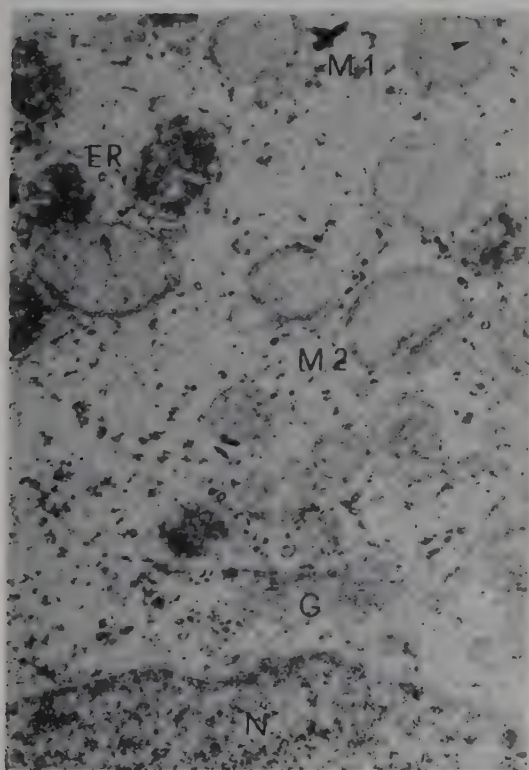
29 a

Abb. 29 b Ausschnitt aus einer Kaninchentrophoblastzelle der frühen Blastozyste. Im Golgi-Bereich (G) sind drei Lysosomen (Ly) mit elektronendichtem Inhalt vorhanden. Daneben ist eine erheblich größere Vakuole zu sehen, die in einer Matrix Mikropinozytosevesikel enthält und möglicherweise mit Golgi-Vesikeln "primäre Lysosomen" der Verdauung zuführt. Besonderer Lysosomentypus: Multivesikulärer Körper (MVB) als "pinozytotisch-digestive Vakuole". (M) Mitochondrien und (R) Ribosomen
1h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 28 000 x

Abb. 30 a Mitochondrien aus einer Trophoblastzelle der frühen Kaninchenblastozyste (72 h p.c.). Die Mitochondrien im oberen Bildabschnitt (M 1) zeigen noch eine konzentrische Ausbildung von zwei Doppelmembranen, während das Mitochondrion in Bildmitte (M 2) mehrere den Matrixraum parallel durchlaufende Cristae ausgebildet hat. Dies wird als eine Strukturänderung zu einer höheren Organisationsstufe gedeutet. (N) Kern, (G) Golgi-Feld, (ER) ER-Vakuole. Pfeilkopf in M1 deutet auf eventuelle mitochondriale Ribosomen.
1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 23 000 x



29 b



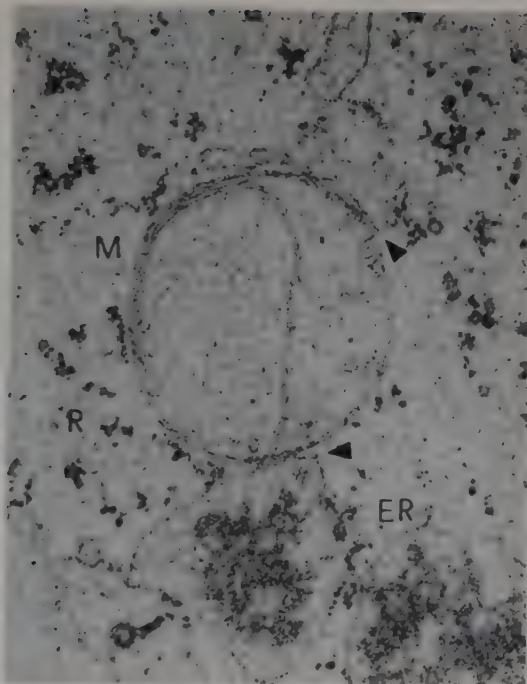
30 a

Abb. 30 b Mitochondrien aus einer Trophoblastzelle der frühen Kaninchenblastocyste (72 h p.c.). Die innere Doppelmembran wird parallel zur äußeren angelegt, biegt aber in den Matrixraum ab und ragt tief als einzelne Platte in den Innenraum. Von der äußeren Hülle springen einzelne kurze Cristae vor. Die Organellenkombination: Mitochondrion- und ER-Vakuolen-Membranen (Pfeilköpfe) dient möglicherweise einem beschleunigten Stoffaustausch. (M) Mitochondrion, (ER) Vakuole des Endoplasmatischen Retikulums, (R) Ribosomen.

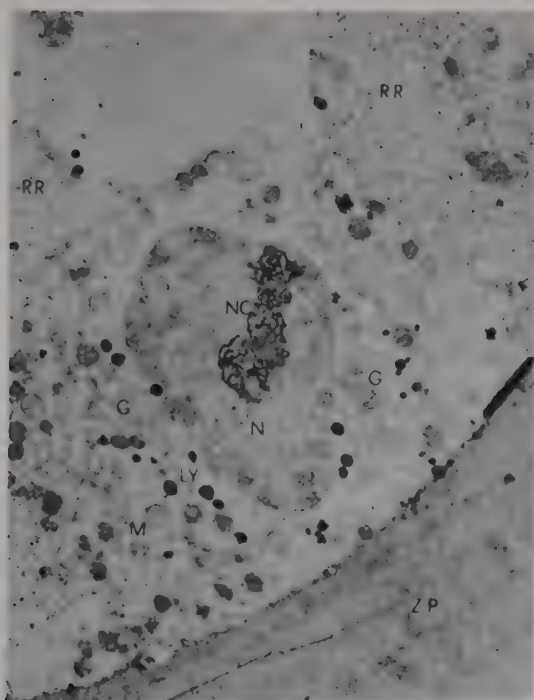
1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. ca. 50 000 x

Abb. 31 a Ribosomen. Übersichtsbild aus drei Trophoblastzellen der frühen Kaninchenblastozyste. In den Zellkuppen, zur Blastozystenhöhle hin vorgewölbt, sind in organellenfreien oder organellenarmen Bereichen große Mengen freier Polyribosomen festzustellen (RR). (G) Golgifelder, (Ly) Lysosomen, (M) Mitochondrien, (N) Kern, (NC) Nukleolus, (ZP) Zona pellucida. Vergl. auch Abb. 23 a.

1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 5 000 x



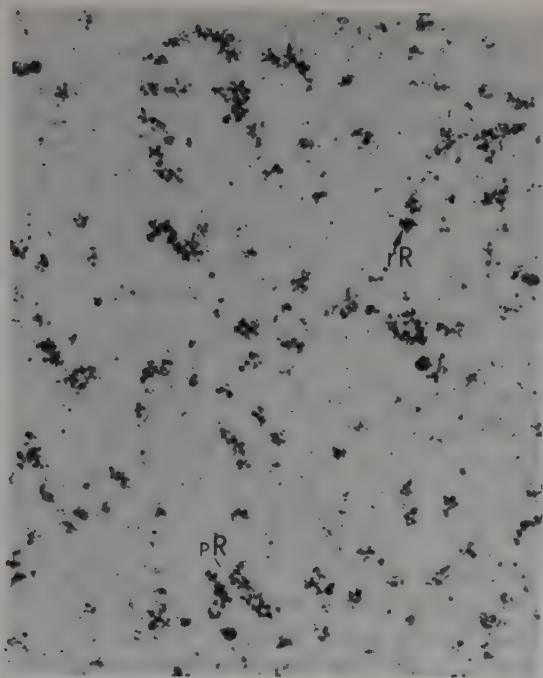
30 b



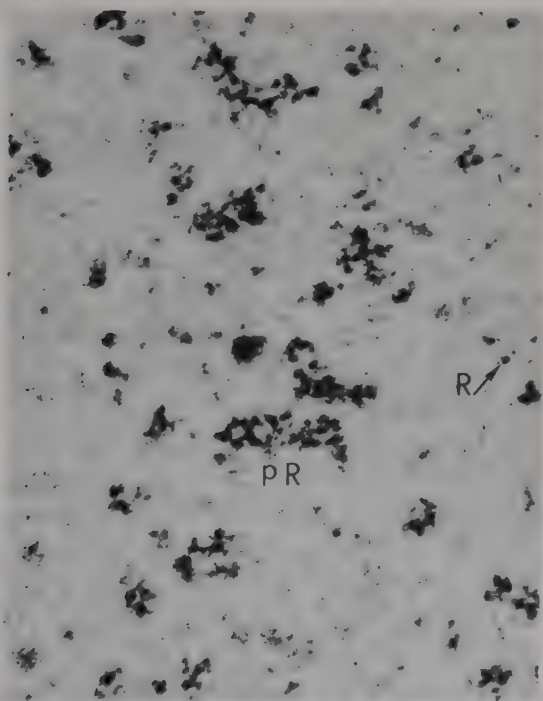
31 a

Abb. 31 b Polysomen aus einer Trophoblastzelle im frühen Blastozystenstadium des Kaninchenkeimes. Gegenüber den späten Morulapolysomen sind die einzelnen Aggregate nicht größer geworden, dagegen ist ihre Anzahl beträchtlich gestiegen. Ribosomenrosette (rR /) besteht aus 4 - 6 einzelnen Ribosomen, Polysomenketten (pR) aus unregelmäßig aneinandergereihten Ribosomen. Polysomenaggregate liegen frei im Zytoplasma: Freie (nicht membran-gebundene) Polysomen. 1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 50 000 x

Abb. 31 c Ribosomen und Polysomen aus einer Trophoblastzelle des frühen Blastozystenstadiums des Kaninchenkeimes (72 h p.c.). An einem Einzelribosom kann man die beiden Untereinheiten, eine kleine und eine große, erkennen (R /). In Polysomenketten (pR) läßt sich teilweise die innere Organisation beobachten; die Ribosomen mit ihren Untereinheiten sind scheinbar regellos an einem m-RNS-Faden zu Organellen zusammengesetzt. Freie Ribosomen und Polysomen. 1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 100 000 x



31 b



31 c

als Tendenz eines langsamen, sukzessiven Strukturwandels der Mitochondrien deuten (Abb. 30 a). Dabei werden alle möglichen Übergangsformen sichtbar: Mitochondrien (im Bild ganz oben, M 1) die noch aus zwei ineinandergeschachtelten Kompartimenten bestehen und im Schnittbild zwei fast parallel laufende konzentrische Doppelmembranen zeigen. Sie schließen eine feinverteilte, nicht sehr dichte Matrix mit gut sichtbaren granulären Strukturen (Ribosomen?) ein. In der weiteren Entwicklung (Abb. 30 b) ist die innere Doppelmembran nicht mehr geschlossen, sondern wird erst parallel zur äußeren Hülle angelegt, biegt aber dann nach innen um und ragt als einzelne Platte weit in den Matrixraum hinein. Von der Mitochondrienhülle springen überdies kurze Cristae vor. Das zur Hülle konzentrische Ansetzen und das plötzliche Abbiegen in den Matrixraum von mehreren Cristae läßt sich im vorliegenden Stadium gut zeigen (Abb. 30 a, M 2).

Diese Cristae durchlaufen das Mitochondrium sektorähnlich, während die äußere Doppelmembran das Ganze umhüllt. So führt die Strukturänderung im Stadium der frühen Blastozyste zu einer differenzierten Organisationsstufe der Mitochondrien.

Außerdem wird eine Organellenkombination von Mitochondrien und Membranen der ER-Vakuolen (Abb. 30 b, Pfeilköpfe) gebildet, die zweifellos einem beschleunigten Stoffaustausch dient.

g. Ribosomen

Schon auf Grund der hochaktiven Nukleolen seit dem Stadium der späten Morula können im Blastozysten-Stadium Ausschleusung von ribosomaler RNS aus dem Kern in das Zytoplasma und dort eine zunehmende Bildung von Ribosomenaggregaten zu Polysomen erwartet werden. Tatsächlich ist eine solche Zunahme kurzer Polysomenketten oder Rosetten zu beobachten (Abb. 23 a RR). Besonders in den Bereichen der Trophoblastzellen, die zur Blastozystenhöhle hin vorgebuckelt (Zellapices, Abb. 31 a, RR) oder der Zellen, die inneren Blastomeren unterlegt sind (Abb. 23 b), läßt sich diese Anhäufung von Polysomen beobachten. Dies tritt um so auffälliger hervor, da die Areale in einigen der

Trophoblastzellen stellenweise keine oder nur wenige andersartige zytoplasmatische Organellen enthalten. Wie bei stärkerer Vergrößerung (Abb. 31 b) sichtbar wird, sind nicht die einzelnen Polysomen größer geworden oder anders orientiert, sondern ihre Anzahl hat zugenommen. Die rosettenförmigen Aggregate (rR $\nearrow$) bestehen aus etwa 4 - 6 Einzelribosomen, die durch einen nur selten sichtbaren m-RNS-Faden zu einem Organell vereinigt werden.

Das Syntheseprodukt (Protein) wird durch die Osmiumfixierung, vor allem aber durch die Doppelkontrastierung mit Uranyl- und Bleiionen miterfaßt, so daß die Rosette ein wenig verklumpt erscheint und in ihre Bestandteile nicht auflösbar ist. Bei höherer Vergrößerung (Abb. 31 c) kann man die beiden Untereinheiten eines einzelnen Ribosoms erkennen (Pfeil R). Die innere Organisation eines kettenförmigen Polyribosomenkomplexes (pR) ist in der Übersicht (Abb. 31 b) und im Detail (Abb. 31 c) nur teilweise zu erkennen. Die Ribosomen, aus einer großen und einer kleinen Untereinheit zusammengesetzt, sind scheinbar regellos an einem m-RNA-Faden zu einem Kompartiment verbunden. Bei der Beschreibung des Endoplasmatischen Retikulums konnten erstmalig für die Kaninchenentwicklung im frühen Blastozystenstadium kleine Strecken membrangebundener Ribosomen (Abb. 27 b) aufgezeigt werden. Diese Umgruppierung läßt sich als ein Zeichen höherer Organisationsform der Ribosomen deuten, welche Grundlagen für eine Änderung des Proteinspektrums in der Keimesentwicklung sein könnte. Alle übrigen Polyribosomen liegen nach bisheriger Beobachtung frei im Grundplasma und werden als freie Polysomen bezeichnet.

2. Embryoblastzellen

Auf einem Schnitt etwa durch die Mitte einer frühen Kaninchenblastozyste im Alter von 72 h p.c., (Abb. 32 a) erkennt man, wie oben beschrieben, die zellfreie Blastozystenhöhle (BC) und 10 innere Zellen, präsumptive Embryoblastzellen (EB), welche von einer Schicht Trophoblastzellen (TB) eingehüllt sind. Nach außen liegen Zona pellucida (ZP) und Mucoproteidschicht (MP) als

Abb. 32 a Lichtmikroskopisches Übersichtsbild eines 72 Stunden alten Kaninchenkeimes im frühen Blastozystenstadiums (72 h p.c.). 10 Präsumptive Embryoblastzellen (EB) liegen in einer Blastozysten-höhle (BC) einseitig den umhüllenden Trophoblastzellen (TB) an. Nach außen hin sind Zona pellucida (ZP) und Mukoproteidschicht (MP) aufgelagert.

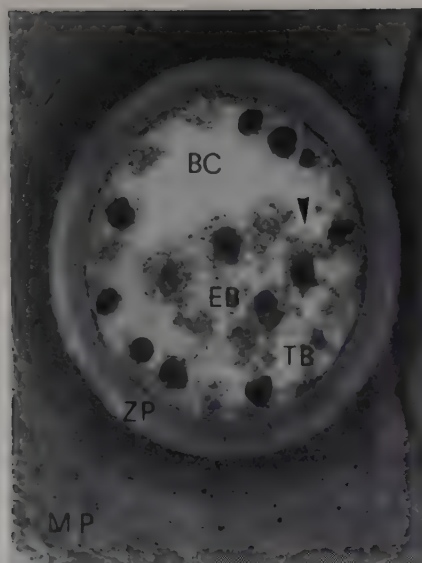
= siehe Abb. 32 b

1 h Osmium-Fix., Epon - Semidünnschnitt, Schnitt-dicke 1 μ m, Färbung: Methylenblau, Vergr. 570 x

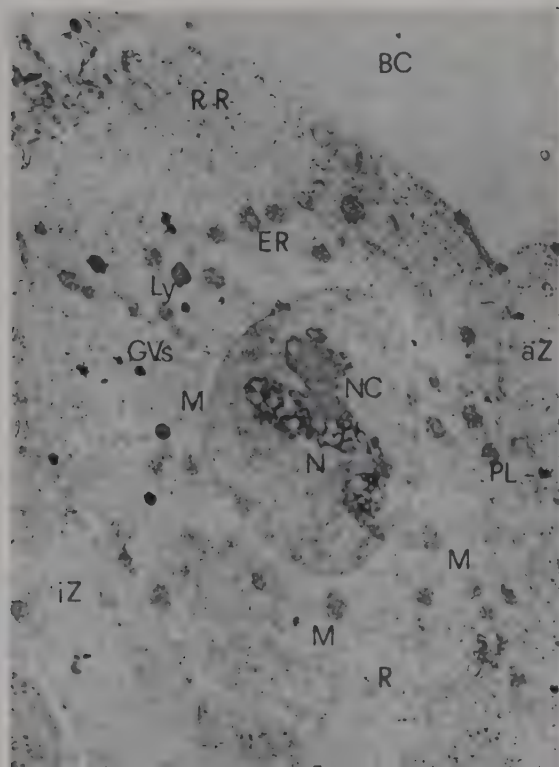
Abb. 32 b EM-Übersichtsbild über eine Embryoblastzelle der frühen Kaninchenblastozyste (72 h p.c., vgl. Pfeil auf Abb. 31 a). Die dargestellte Zelle liegt in einem lockeren Verband mit ihren inneren Nachbarzellen (i.Z. links oben, links und unten). Rechts ist eine Trophoblastzelle (M.Z.) dargestellt, die der Embryoblastzelle als Unterlage dient. Die äußeren Membranen (PL) beider Zellen schließen fast auf der ganzen Strecke parallel und glatt aneinander. Bis auf einige Vakuolen und Vesikel im Interzellularspalt, die mit einer elektronendichten, verstärkten Membran umgeben sind, lassen sie Anzeichen eines Stoffaustausches nicht erkennen.

Das Organellenspektrum im Zytoplasma der präsumptiven Embryonalzelle entspricht dem der Trophoblastzelle. Lediglich sind die Polysomen (R) in dem Bereich, der in die Blastozystenhöhle (BC) vorgewölbt ist, vermehrt. (N) Kern, (NC) Nukleolus, (ER) Er-Vakuolen, (GVs) Golgi Vesikel, (Ly) Lysosomen, (M) Mitochondrien,

1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 5 000 x



32 a



32 b

Keimhüllen dicht auf. Der auf dem lichtmikroskopischen Bild (Abb. 22 a) durch einen Pfeil bezeichneten Embryonalzelle konnte die auf Abb. 32 b dargestellte elektronenmikroskopisch abgebildete Zelle zugeordnet werden. Die Zelle zeigt zu ihren Nachbarzellen ein unterschiedliches Verhalten. Mit ihren inneren angrenzenden Zellen (links oben und unten) bildet sie einen lockeren Verband, während die ihrenganliegende Trophoblastzelle als Unterlage dient (rechts) (Abb. 22 a und b). Die Zellmembranen dieser beiden Zellen verlaufen fast auf der ganzen Strecke parallel und glatt. Abgesehen von einigen Vakuolen und Vesikeln mit elektronendichten, verstärkten Membranen im Interzellularraum sind Hinweise auf einen direkten Stofftransport zwischen Trophoblast- zu Embryoblastzelle nicht vorhanden.

Eine Menge Vakuolen und Vesikel, mit starken elektronendichten Membranen umhüllt, befinden sich (links oben im Bild) in der Blastozystenhöhle in der Nähe der Zelloberfläche und unmittelbar an ihr. Beide Strukturen deuten auf einen regen Stofftransport durch die in der Blastozystenhöhle befindliche Blastozystenflüssigkeit hin. Hinsichtlich der Kernstruktur lassen sich Unterschiede von äußeren und inneren Blastomeren nicht feststellen. Um den zentralen Kern sind die Zytoplasmaorganellen gleichmäßig verteilt, genau wie im vorigen Stadium (S. 78). Der Kernstatus mit dem imposanten Bild eines hochaktiven Nukleolus, dessen Produkte als Ribosomen massenhaft vermehrt im Kern vorliegen, imponiert hier wie bei den Trophoblastzellkernen. Das Organellenspektrum der Embryoblastzelle ist dem der Trophoblastzellen, wie es im einzelnen in Abschnitt VI dargestellt und beschrieben wurde, zwar qualitativ gleich, aber quantitativ unterschiedlich. Beim Vergleich von Abb. 32 b mit Abb. 23 a macht sich im Grundplasma der Embryoblastzelle eine leichte Vermehrung der Ribosomen bzw. Polysomen bemerkbar. Nach

diesen morphologischen Kriterien bahnt sich zusätzlich zu den durch unterschiedliches Verhalten des Plasmalemm bedingten Ernährungsunterschieden ein Unterschied in der quantitativen Ausstattung von Organellen, vor allem Ribosomen an. Qualitative Unterschiede lassen sich hinsichtlich der Strukturelemente nicht feststellen.

3. Ergebnisse des Kapitel VI

1.) Durch Ausweitung der Lücken im Verband der inneren Zellen wird eine Blastozystenhöhle gebildet, an deren einen Seite sich die Embryoblastzellen sammeln und der sie umgebenden Schicht von Trophoblastzellen anlagern.

2.) Entsprechend der unterschiedlichen Funktion der Blastozysten Zellen ist die Differenzierung in ihrem jeweiligen Plasmalemm unterschiedlich: Sehr stark ausgebildet ist es bei den äußeren Blastomeren des Trophoblast an ihrer Basis. Durch dieses finden in der Zona pellucida vermehrt Abbauprozesse statt. Zeichen ansteigenden Stofftransports in die Zelle hinein sind Mikropinocytosebläschen (MPV). Möglicherweise durchlaufen sie die Trophoblastzelle als "Zytopenmpsisvesikel", werden am apikalen Plasmalemm in multivesikuläre Vakuolen verpackt und durch die Blastozystenhöhle zu den Embryoblastzellen transportiert. Basal können die Trophoblastzellen durch Bildung von Mikrovillinestern verankert sein. Lateral festigen sie sich durch "Schlußeistenkomplexe". Apikal bleibt das Plasmalemm glatt.

Ebenfalls besitzen die inneren Blastomeren eine relativ glatte Pellicula. Aber Vakuolenansammlungen deuten auf den Beginn starken Stofftransportes aus der Blastozystenhöhle hin.

3.) Der Kern ist vom Umriß her gleichmäßiger und glatter in der Oberflächenstruktur geworden, Invaginationen sind bis auf kleine Ausbuchtungen zurückgebildet. Der Kern gleicht sich einem normalen Zellstatus an. Das Karyoplasma mit Chromatin scheint durch massenhafte Einlagerung von

ribosomenähnlichen Partikeln dichter als in den Kernen der Morulazellen. Diese Ribosomenpartikel stammen offenbar aus dem Nukleolus, der in seinen Dimensionen größer geworden ist und die "pars granularis" erheblich ausgeweitet hat. Der nukleolochromosomale Komplex gelangt auf die Höhe seiner Syntheseleistung.

4.) Die Vakuolen des Endoplasmatischen Retikulums verschmelzen zu größeren Kompartimenten. Ohne Änderung der kondensierten, flockigen Inhalte (Dotter) entstehen weite, fast leere Räume. Langgezogene Ausläufer der Hüllmembranen, die nahezu parallel laufend von außen mit Ribosomen besetzt werden, bilden Übergänge zu einem rauen Endoplasmatischen Retikulum (RER).

5.) Die Golgi-Apparate haben in der Größe und Menge ihrer sackförmigen Zisternenstapel zugenommen, was auf eine intensiviertere Synthese- und Kondensations-Aktivität schließen läßt. Ihre ausgeprägte Polarität zwischen ER (Regenerationsseite) und Kern (Sekretionsseite) behalten sie auch in diesem Stadium bei.

6.) In der Vielfältigkeit der Lysosomenformen findet sich seit dem 2-Zellenstadium wieder erstmals ein Organell, das als relative große Vakuole mit einer Membran eine Menge kleiner Mikropinocytose- oder Cytopempsisbläschen umgibt. In die Vakuole werden möglicherweise aus dem Golgi-Feld reife Vesikel als "primäre Lysosomen" aufgenommen (Bildung einer autolytischen, digestiven Vakuole = "sekundäres Autolysosom").

7.) Die Mitochondrien zeigen ein sehr unterschiedliches Aussehen. Eine langsame Strukturveränderung, zunehmende Bildung von Cristae, leitet den Übergang zu einer vermutlich neuen Art der Energiegewinnung (Atmung, oxydative Phosphorylierung) ein.

8.) Vom späten Morulastadium an haben die durch vermehrte r-RNS-Synthese produzierten "neuen" Ribosomen im Zytoplasma "neue" Polysomen gebildet, unregelmäßige, kettenartige Aggregate, die möglicherweise die Synthese "neuer" Proteine verursachen. Neben diesen freien Ribosomen treten

in dem Entwicklungsstadium der frühen Blastozyste erstmalig "membrangebundene Ribosomen" als rauhes ER auf, was in die gleiche Richtung weist.

9.) Die schon in der späten Morula angedeuteten differenzierten Ausbildungen des Plasmalemmes bei Trophoblastzellen und inneren Blastomeren weisen auf eine unterschiedliche Ernährungsweise hin: Trophoblastzellen vermitteln einen Ernährungsstrom von der Zona in die Blastozystenhöhle hinein, die Embryoblastzellen nehmen Stoffe aus der Blastozystenhöhle auf. Ihre Bewegungsfähigkeit bleibt erhalten. Außer diesen Unterschieden lassen sich im Spektrum der Kern- und Zytoplasmaorganellen besondere eigene strukturelle Differenzierungen von inneren Embryoblastzellen und äußeren Trophoblastzellen nicht feststellen. Lediglich quantitativ bahnt sich ein Unterschied im Ribosomengehalt an, insofern die Embryoblastzellen offenbar ein Mehr an Ribosomen produzieren.

VII Untersuchungen an Kaninchenblastozysten
im Stadium der Keimblase mit abgerundetem
Embryonalknoten (82 h p.c.)

Die Entstehung einer Höhle im Keim, der Blastozystenhöhle, und die Trennung der Blastomeren in äußere Trophoblastzellen und innere Embryoblastzellen zeigen eine frühzeitige, organähnliche Sonderung des Keimmaterials in zwei differente Zellgruppen. Diese in der frühen Blastozyste (72 h p.c.) beginnende formwechselphysiologisch relevante Orientierung und Anordnung der Blastomeren wird in der weiteren Keimesentwicklung stärker ausgeprägt. Auf dem Schnittbild durch die Mitte einer Keimblase von 82 Stunden p.c. (Abb. 33 a) sieht man den bereits für sich abgerundeten Embryonalknoten. 22 Zellen ragen in einem relativ engen Verband kugelig in die Blastozystenhöhle hinein. Die Keimscheibe liegt einseitig dem Trophoblast an, der auf der Abbildung mit 21 Zellen die Blastozystenhöhle und die Keimscheibe umschließt und basal mit der Zona pellucida eng verbunden ist. Der gesamte Keim mit Hüllen (Mucoproteidschicht und Zona pellucida) hat einen Durchmesser von etwa 0,5 mm, wobei die Keimblase mit ca. 160 µm Durchmesser geringfügig an Größe zugenommen hat. Die Zona pellucida ist deutlich in ihrer Stärke zurückgebildet (Vergl. Abb. 22 a), während die Mucoproteidschicht noch etwa die gleiche Ausdehnung besitzt. In gleichem Maß, in dem die Zellen der Keimblase insgesamt an Zahl zugenommen haben, sind ihre Volumenanteile vermindert worden. Die zunehmend kleiner werdenden Zellen in Trophoblast und Embryoblast beinhalten auch kleinere Kerne.

Die weitere strukturelle Analyse der beiden Zellgruppen soll darüber Aufschluß geben, ob sich in der Feinstruktur einzelner Zellbereiche oder Kompartimente Unterschiede herausgebildet haben, aus denen im Vergleich zu den früheren Entwicklungsstadien auf eine fortschreitende charakteristische Differenzierung geschlossen werden kann.

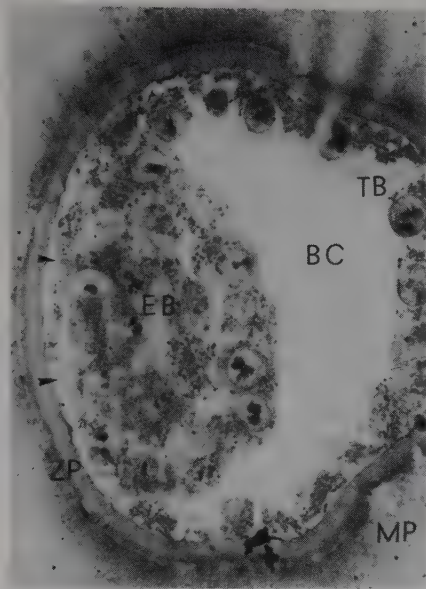


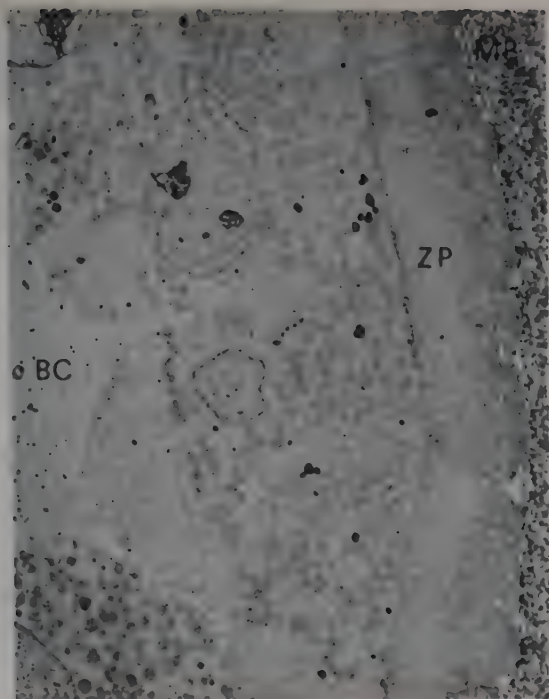
Abb. 33 a Lichtmikroskopische Übersichtsaufnahme einer Kaninchenblastozyste 82 h p.c. Eingeschlossen von Mucoproteidschicht (MP) und Zona pellucida (ZP) bilden die Trophoblastzellen, der Zona pellucida eng anliegend, die Blastozystenöhle (BC), in der einseitig der runde Embryonalknoten dem Trophoblasten aufliegt u. anscheinend zwischen den Trophoblasten verankert ist (Pfeilköpfe). Abembryonale Trophoblastzellen und Embryoblastzellen sind etwa gleich stark gefärbt, während die als Auflage oder "Haftfläche" dienenden Trophoblastzellen als deutlich heller erscheinen. (EB) Embryoblast, (TB) Trophoblast 1h Osmim-Fix., Eponschnitt 1,5 μ m; Methylenblaufärbung, Verg. ca. 850 x

Abb. 33 b Abembryonale Trophoblastzellen aus der Kaninchenblastozyste 82 h p.c. Sie liegen der Zona pellucida (ZP) dicht an, die wesentlich in ihrer Stärke vermindert ist und von außen, von der Muco-proteidhülle (MP) her, als aufgelockert erscheint. Die Trophoblastzellen sind von gedrungener zylindrischer Gestalt, mit ihrem apikalen Teil in die Blastozystenhöhle (BC) vorgewölbt und lateral mit den Nachbarzellen in dichtem Verband.

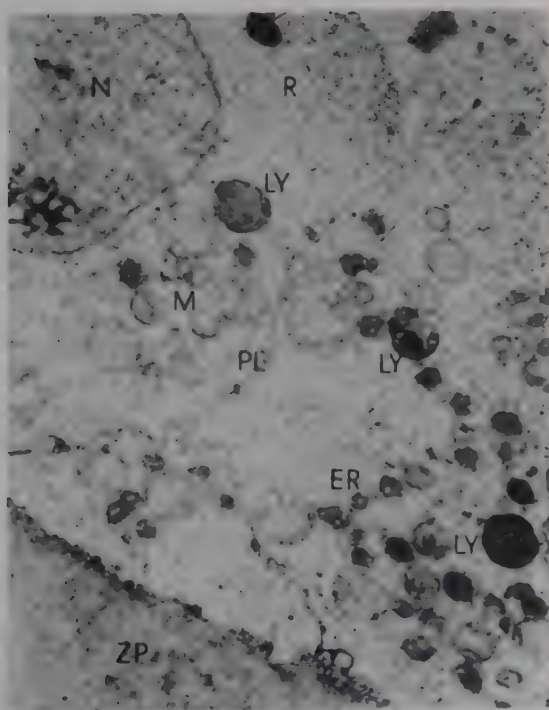
1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. ca 5 000 x

Abb. 33 c Ausschnitt aus drei abembryonalen Trophoblastzellen der Kaninchenblastozyste 82 h p.c. Die Organellen sind basal und lateral vom Kern (N) angeordnet, während der apikale Bereich der Zelle eine große Menge Polysomen (R) enthält. Die Trophoblastzellen liegen der Zona pellucida (ZP) dicht an und sind von einer geschlossenen Membran, dem Plasmalemm (PL) umgeben. (N) Kern, (ER) Zisternen des ER, (Ly) Lysosomen, (M) Mitochondrien, (R) Polysomen.

1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 9 200 x



33 b



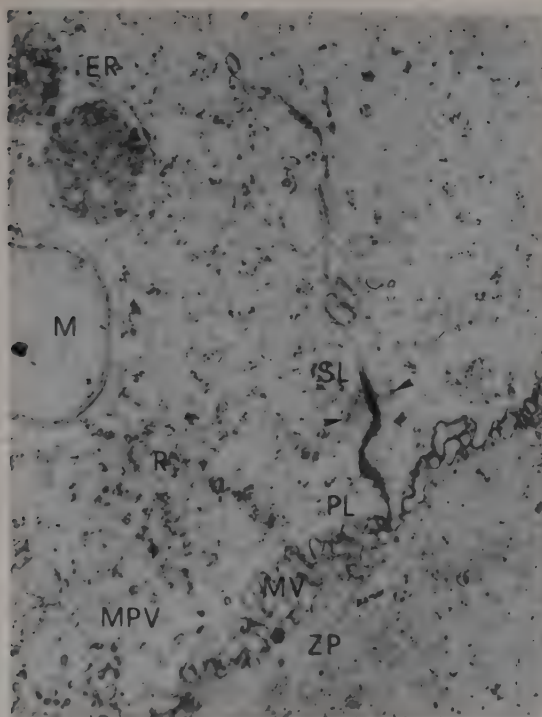
33 c

Abb. 34 a Basales Plasmalemm (PL) von zwei benachbarten Trophoblastzellen der Kaninchenblastozyste 80 h p.c.. Von dem hier befindlichen Mikrovillus-Büschel ausgehend werden über die äußere Zelloberfläche zunehmend Mikrovilli (MV) ausgebildet, an deren Basis eine Vielzahl Pinozytosevesikel (MPV) in die Zelle hinein abgeschnürt werden. Das laterale Plasmalemm beginnt mit einem "Schlußeistenkomplex" (SL). Von beiden Zellen wird dunkles, fädiges Material (M) den Membranen des Plasmalemm an-, ein- und zwischengelagert. Im weiteren Verlauf der seitlichen Zellgrenze sind vereinzelte Mikrovilli im Interzellularspalt eingeschlossen, in deren Umgebung geringe Endozytoseaktivität zu beobachten ist. (ZP) Zona pellucida, (ER) Zisterne des ER, (M) Mitochondrion und (R) Polysomen.

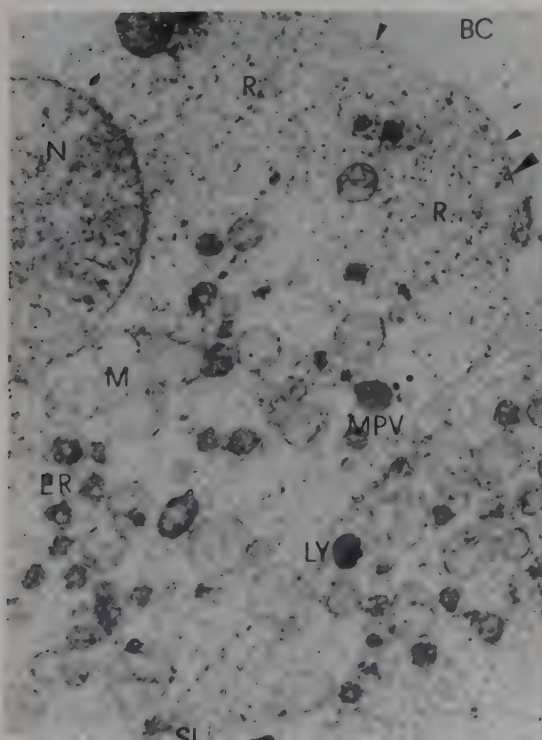
1 h Osmium-Fix., U/Pb.Kontr., Epon, Vergr. 25 000 x

Abb. 34 b Trophoblastzelle einer Kaninchenblastozyste 80 h p.c. Das laterale Plasmalemm beginnend mit dem Schlußeistenkomplex (SL) zeigt an einigen eingeschlossenen Mikrovilli Pinozytosevesikel (MPV). Das apikale Plasmalemm wird von der Blastozystenflüssigkeit (BC) umspült und gibt durch Exozytoseaktivität (Pfeile) strukturelle Hinweise für die ernährnde Funktion der Trophoblastzellen. (N) Kern, (ER) Zisternen des ER, (M) Mitochondrien, (Ly) Lysosomen, (R) Polyribosomen.

1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 9 200 x



34 a



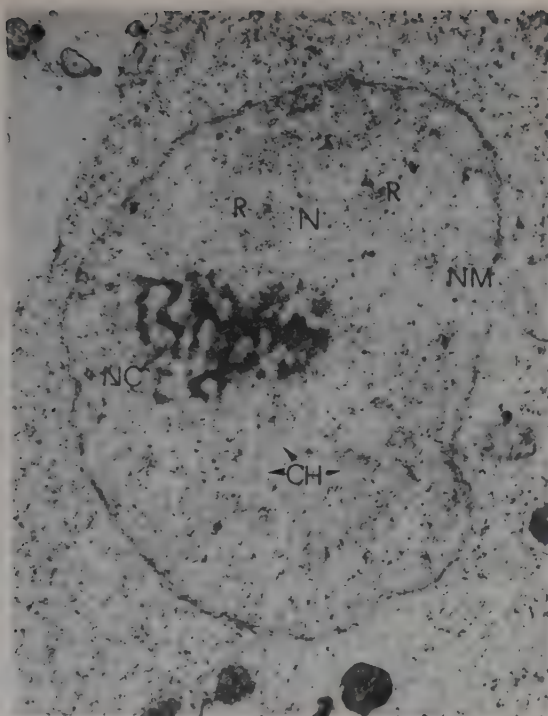
34 b

Abb. 35 a Kern (N) einer Trophoblastzelle der 82-Stunden-Blastozyste vom Kaninchen. Er ist rund-oval und in seiner Oberfläche leicht gewellt. Die Kernhülle (NM) schließt das Karyoplasma mit den Strukturelementen Chromatin (Ch) und Nukleolus (NC) ein. Ribosomenansammlungen im Kern sind bis auf wenige Bezirke (R) abgebaut. Im Nukleolus sind sie praktisch nicht mehr zu sehen. Ebenso scheint dieses Organell in seinen Ausmaßen zurückgebildet zu sein.

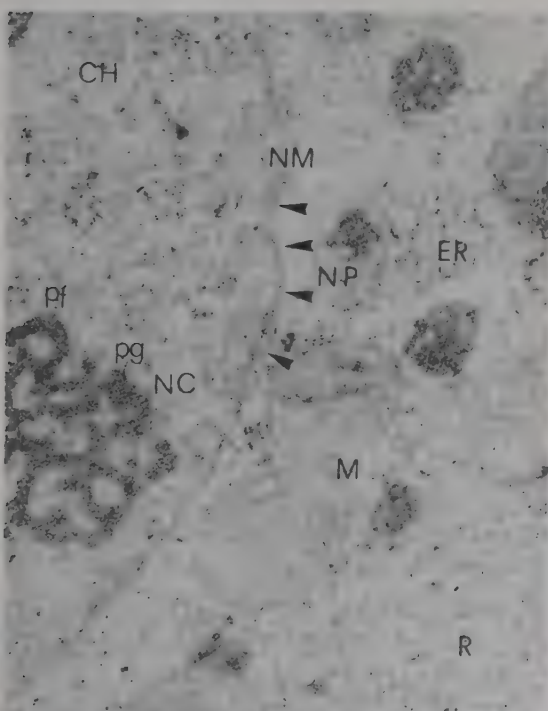
1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 13 000 x

Abb. 35 b Kernausschnitt einer Trophoblastzelle der 82-Stunden-Blastozyste. Die Kernhülle (NM) ist regelmäßig von Kernporen (NP) durchbrochen. Die Nukleonemata des Nukleolus (NC) bestehen aus "pars fibrillaris" (pf) und "pars granularis" (pg), wobei letztere kaum überwiegt. Die "Ribosomen-Depots" des Nukleolus in der frühen Blastozyste sind praktisch nicht mehr zu sehen. Im Zytoplasma Zisternen des ER (ER), Mitochondrien (M) und Polyribosomen (R). Im Kern lichte, wolkenartige Chromatinbezirke (Ch).

1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 25 000 x



35 a



35 b

1. Trophoblastzellen

Die Trophoblastzellen der Kaninchenblastozyste haben nach 82 h p.c. in ihrem Erscheinungsbild Unterschiede herausgebildet. Abembryonal sind sie teils von gedrängener, zylindrischer Form und wölben sich mit ihrem apikalen Teil in die Blastozystenhöhle vor (Abb. 33 b vergleiche 33 a); teils liegen sie breit mit ihrer Basis der Zona pellucida auf und ragen nur flach in die Blastozystenhöhle.

An der embryonalen Seite dienen sie dem Embryonalknoten als Unterlage (Abb. 33 a). Sie sind "flachgedrückt" und niedrig oder polygonal. In ihrer Plasmakonsistenz erscheinen sie lichtmikroskopisch als deutlich lichter gegenüber den angrenzenden dunklen Embryoblastzellen (vgl. Abb. 42 a). Die Organellen des Zytoplasmas der Trophoblastzellen (Abb. 33 c) sind mehr in den basalen und lateralen Bereichen der Zelle um den gering basal verlagerten Kern angeordnet, während der apikale Teil der Zelle vorwiegend Polysomen enthält. Die Organellenausstattung besteht aus Zisternen des endoplasmatischen Retikulums, Golgi-Feldern, Lysosomen und Mitochondrien. Insgesamt liegen die Trophoblastzellen der Zona pellucida dicht an und sind von einem geschlossenen Plasmalemm umgeben.

a. Plasmalemm

Das Plasmalemm der Trophoblastzellen ist, wie es schon in der späten Morula in den äußeren Zellen in den Grundzügen angelegt und in der frühen Blastozyste ausgebildet wird, je nach Lage verschieden strukturiert. Basal hat es im Blastozystenstadium 80 h p.c. (Abb. 34 a), von der Kontaktstelle zweier benachbarter Trophoblastzellen ausgehend, büschelartig Mikrovilli (MV) ausgebildet. Sie verbreiten sich zunehmend über die äußere Zellfläche und reichen tief in die Zona pellucida hinein. An ihrer Basis entstehen eine Vielzahl von Mikropinocytosevesikel (MPV). Sie dienen vermutlich als Transportvesikel, die

das aufgenommene Material in einem Akt der Endozytose tiefer in die Zelle hineinbringen. Vereinzelt werden kurze Mikrovilli vom lateralen Plasmalemm in den Interzellularspalt eingeführt. In ihrer Umgebung kann man zellwärts geringe Endozytoseaktivität (MPV) beobachten (Abb. 34 b). Das laterale Plasmalemm, die Membrangrenze von zwei benachbarten Trophoblastzellen, beginnt basalwärts mit dem intensivsten Teil der strukturellen Bindung überhaupt, dem "Schlußleistenkomplex" (SL). An dieser Stelle wird von den beiden aneinanderliegenden Zellen dunkles, fädiges Material (Pfeile) den Membranen an- und eingelagert. Dies ist als dunkle zur Kittstelle hinführende Zone zu beobachten. Auch scheint der Intermembranraum im Schlußleistengebiet Anteile dieses Materials zu enthalten.

Das apikale Plasmalemm läßt eine nicht geringe Aktivität der Exozytose (großer Pfeil, Abb. 34 b) erkennen. Bei diesem Vorgang werden Stoffe, die als Inhalt von kleinen Vesikeln an die Zelloberfläche gelangen, aus der Zelle ausgeschleust. Sobald die Vesikelmembran das Plasmalemm erreicht hat, reißt sie auf, gibt den Inhalt nach draußen in die Blastozystenflüssigkeit ab und wird in das Plasmalemm integriert. Die Exozytoseaktivität ist ein zwingender struktureller Hinweis auf die nutritive Funktion der Trophoblastzellen für die Blastozystenhöhle und den Embryoblasten.

b. Kern

Der Kern einer Trophoblastzelle aus der Kaninchenblastozyste 80 h p.c. (Abb. 35 a) ist im Gegensatz zu der Lage auf der Abbildung, in der er sich im apikalen Zellbereich befindet, meist etwas basal gelegen. In seinem Volumen hat er gegenüber dem Kern der frühen Blastozystenzone geringfügig verloren; aber in Relation zur Zellgröße ist seine dominante Stellung geblieben. Vom äußeren Umriß her gleicht sein Bild dem Kern der frühen Blastozystenzone. Er ist rund bis rundoval und in seiner Oberfläche nur leicht gewellt.

Auch die Kernhülle (Abb. 35 b) vermittelt den Eindruck einer normalen Kernaktivität durch den ungestört gleich-

mäßigen Verlauf der beiden Membranen, sowohl der karyoplasmatischen wie auch der zytoplasmatischen. Im Profilschnitt sieht man in regelmäßigen Abständen Kernporen, die z. T. durch Pfeile kenntlich gemacht sind. Das Karyoplasma mit den feinen fibrillären Strukturkomponenten, den Elementarfibrillen, die jedoch nur mit speziellen Methoden darstellbar sind, bildet die Grundsubstanz, in die die karyoplasmatischen Strukturelemente, der DNS-Protein-komplex als Chromatin und der Nukleolo-Chromosomal-Komplex als Nukleolus eingebettet sind.

Chromatin ist in kleinen dunklen Arealen (Ch) fast gleichmäßig über den Kernraum verteilt (Abb. 35 a) und verleiht dem Kern insgesamt eine verstärkte Dichte. Die dunklen, wolkenartigen Chromatinansammlungen bestehen aus feinsten Fibrillen, die mit granulären Partikeln durchsetzt sind. Diese Partikel sind wesentlich kleiner als die ribosomenähnlichen Granula, die den Kern der frühen Blastozysten zelle förmlich überschwemmten. (Abb. 25a). In der 82-Stunden-Blastozyste sind sie deutlich bis auf einige, wenige Ansammlungen (R) reduziert. Mit der Abnahme der ribosomenartigen Granula im Kern hat sich auch die Produktionsstätte der Ribosomen, der Nukleolus geändert. In den Nukleolonemata, die aus der "pars fibrillaris" und der "pars granularis" aufgebaut wurden, herrschen die granulären Elemente nur noch wenig. Der Nukleolus ist kleiner geworden. Die Granula-Depots sind abgebaut. (Abb. 35 a, b). Wie diese strukturellen Veränderungen in den einzelnen Bereichen des Kerns vermuten lassen, läuft die Massenproduktion von Ribosomen, die aus einer hohen RNS-Syntheseaktivität im Nukleolus resultierte, aus und geht vermutlich in eine physiologische Ribosomenbiogenese über.

c. Grundzytoplasma

Für das Grundzytoplasma der späten Blastozyste gilt das S. 27f für die Zellen der Morulastadiums gesagte.

Es wirkt nach WOHLFAHRT-BOTTERMANN (1972) als die verbindende Hauptphase und als Matrix aller Zytoplasmastrukturen und Zytoplasmaeinschlüsse. Das Grundplasma ist neben der Bildung zytoplasmatischer Membranen, die aus der Matrix entstehen und die wieder in ihr aufgehen können, auch für die Zellmotilität, für verschiedene zelluläre und zytoplasmatische Bewegungsvorgänge unentbehrlich.

d. Endoplasmatisches Retikulum

Die einfache Hüllmembran der Zisternen des endoplasmatischen Retikulums (Abb. 36 a) ist unregelmäßig von Ribosomen besetzt und verschmilzt oft mit den Membranen der Nachbarvakuolen. Hierdurch entstehen relativ große, von einer gemeinsamen Membran begrenzte Zisternen. Die zunächst zipfelig auslaufenden Fortsätze dieser Hüllmembran, die bei Verlängerung als Schläuche eine Doppelmembran bilden, beiderseits von Ribosomen besetzt werden und als Übergang zu einer Art rauhen endoplasmatischen Retikulums gedeutet werden können, habe ich nur in der frühen Blastozyste (S. 102) darstellen können. In der Kaninchenblastozyste von 80 h p.c. sind solche kurzen RER-Schläuche nicht zu beobachten. Dagegen kann auch in diesem Entwicklungsstadium die Tendenz der Zisternen des endoplasmatischen Retikulums bestätigt werden, sich den Außenmembranen der Mitochondrien eng anzulegen. Möglicherweise geschieht so die Versorgung der Mitochondrien mit Stoffen, die sie nicht selbst produzieren können, aber zu ihrer Funktion benötigen. Gleichzeitig werden vermutlich mitochondriale Metabolite an das endoplasmatische Retikulum abgegeben.

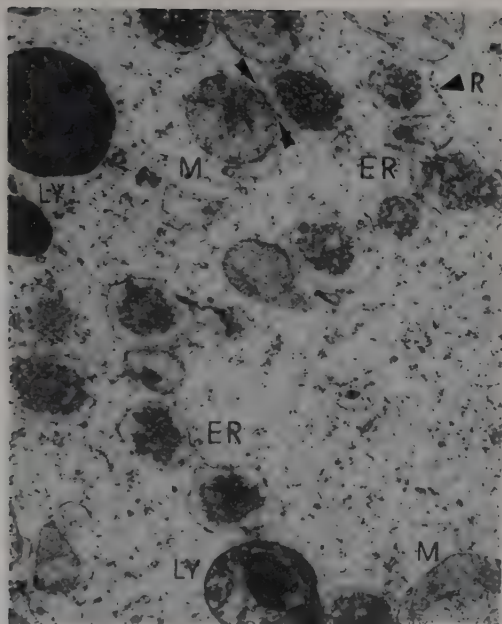
e. Golgi-Apparat

Ebenso wie in der frühen Blastozyste besitzen die Trophoblastzellen der Kaninchenblastozyste von 80 h p.c. ausgedehnte Golgi-Apparate, die sich schalenartig und netzförmig um den mittleren und unteren Kernbereich ausbreiten. Im apikalen Zellbereich über dem Zellkern werden in der Regel Golgi-Felder nicht beobachtet. Sie

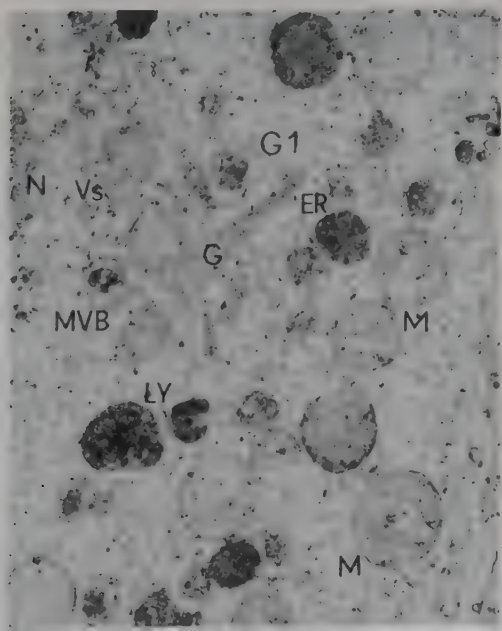
Abb. 36 a Vakuolen des endoplasmatischen Retikulus (ER), deren Inhalt (Proteindotter) schollig kondensiert ist. Die Membranen sind manchmal noch unregelmäßig mit Ribosomen besetzt (✓ R). Sie zeigen die Tendenz, sich den äußeren Mitochondrienmembranen (M) eng anzulegen (Pfeilköpfe). Möglicherweise findet hier ein funktioneller Stoffaustausch zwischen beiden Kompartimenten statt. (Ly) Lysosomen.
1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. ca. 20 000 x

Abb. 37 a Teil des Golgi-Apparates einer Trophoblastzelle der Kaninchenblastozyste von 80 h p.c. In der Nähe des Kerns (N) sind einige Golgi-Felder in verschiedener Ebene und Lage zueinander zu sehen. Golgi-Vesikel (Vs) mit dichtem Inhalt scheinen mit Lysosomen (Ly) bzw. mit einem multivesikulären Körper (MVB) funktionell verbunden zu sein. Bei G1 stehen die Vakuolen der Regenerationsseite des Golgi-Feldes in enger Verbindung zu Zisternen des ER (links oben im Bild). Der polare Aufbau des Organell wird deutlich: Rechts unten im Bild: Regenerationsvakuolen - in Bildmitte Zisternenstapel - Links oben Sekretionsvesikel (vgl. Abb. 37 b).
(M) Mitochondrien

1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 13 800 x



36 a



37 a

befinden sich vorwiegend in den basalen und lateralen Zytoplasmabezirken. In einem relativ kleinen Areal vereint sieht man auf Abb. 37 a nahe dem Zellkern (N) einige Golgi-Felder (G), die in verschiedenen Ebenen und Richtungen einander zugeordnet sind. Davon ausgehend verstreuen sich eine Menge "reifer" Golgi-Vesikel (Vs) im Zytoplasma in Richtung Kern.

Die enge Lagebeziehung zu den Lysosomen (Ly) deutet auf eine mögliche Interaktion von Lysosomen und Golgi-Vesikeln, - Bildung sekundärer Lysosomen in Form von Multivesikulären Körpern (MVB) hin. Andererseits scheinen die großen Vakuolen des Golgi-Feldes (G 1) mit Zisternen des Endoplasmatischen Retikulums (ER) in Beziehung zu stehen. Hier kann der polare Aufbau des Apparates besonders gut sichtbar gemacht werden (Abb. 37 b). Auf der flachen Seite des Golgi-Feldes lagern sich Vakuolen des ER mit unterschiedlich dichtem Inhalt dem Komplex von etwa 5 - 6 glattwandigen, sackartigen Golgi-Zisternen die dichtgepackt gestapelt liegen (Abb. 37 b), an (Regenerationsseite). An den geschlossenen seitlichen Enden und auf der anderen flachen Seite werden die Golgi-Vesikel abgeschnürt (Sekretionsseite). Bei der funktionellen Vielseitigkeit und offenbaren Vermittlerrolle des Golgi-Apparates bedarf es noch großer Anstrengungen, seine spezielle Funktion in diesem Stadium des sich entwickelnden Kaninchenkeims zu klären.

f. Lysosomen

Kaum eine Organellenart weist in den Zellen der Kaninchenblastozysten eine solche strukturelle Vielseitigkeit auf wie die Gruppe der Lysosomen. Es sei auf die Ausführungen über ein für das Stadium der frühen Blastozyste verwiesen. Sie gelten auch hier.

g. Mitochondrien

Die für die späte Kaninchenmorula typische Form der Mitochondrien, der Zwiebelschalentypus, ist praktisch verschwunden und über alle möglichen Zwischenstadien in der frühen Blastozyste mit beginnender Cristae-Bildung zu einem Mitochondrion geworden (Abb. 29 a M), wie wir es auch von anderen Organen z.B. von der Leber-

zelle her, kennen: Mitochondrien vom Cristaetypus mit matrixreichen Innenraum.

Die äußere Form variiert von einer runden, über rund-ovalen bis länglichen. Die Cristae durchziehen teils einzeln, teils als parallele Platten den ganzen Matrixraum oder in kurzem Bogen sektorähnlich die Randbezirke (Abb. 39 b). Dabei werden die Cristae ausnahmslos von der inneren Mitochondrienmembran gebildet. Die Außenmembran stellt als einfache Membran die Umhüllung dar. Der Hohlraum zwischen beiden Membranen wird als äußere Mitochondrienkammer oder äußere Mitochondrienmatrix bezeichnet. Er setzt sich als Intraoristaraum bis in die Cristae fort.

Die Mitochondrien der Trophoblastzellen dieses Blastozystenstadiums geben mit ihrer Transformation von einem Spezialtypus zu der traditionellen Form und mit der erheblichen Zunahme der Membranprofiildichte (Cristabildung) zwingende morphologische Hinweise für einen unlängst geänderten Funktionsstatus.

h. Ribosomen

Die Ribosomen der Blastozysten zellen nach 80 Stunden p.c. (Abb. 40 a) sind höchstwahrscheinlich sämtlich zu kurzkettigen oder rosettenförmigen Polysomen aggregiert. Ihre starke Produktion in den Nukleolen und ihre große Anzahl in den Kernen der frühen Blastozyste hat jetzt zu einer gewaltigen Zunahme besonders in den apikalen Teilen der Trophoblastzellen geführt. Die von Organellen fast freien, in die Blastozystenöhle vorgewölbten Zellabschnitte verdanken ihre Zytoplasmadichte ausschließlich der riesigen Menge von Polysomen. Diesen strukturellen Änderungen entsprechend werden große Massen von Proteinen gebildet, die mutmaßlich Ausdruck der stark angefachten Differenzierung sind.

2. Embryoblastzellen

In der Kaninchenblastozyste 80 h p.c. liegen bei Osmiumfixierung und Methylenblaufärbung (Abb. 33 a)

die dunklen Embryoblastzellen, zu einem runden in sich geschlossenen Embryonalknoten verbunden, den hellen Trophoblastzellen einseitig dicht an. Sie scheinen förmlich an diesen verankert zu sein (Pfeilköpfe). Auf der anderen Seite ragt der Embryonalknoten frei in die Blastozystenhöhle, die von den **abembryonal** Trophoblastzellen umschlossen wird, hinein. Auf dem lichtmikroskopischen Bild sind die **abembryonalen** Trophoblastzellen gleichgefärbt mit den Embryoblastzellen, während die dem Embryonalknoten als Auflage (oder Anhaftfläche) dienenden Trophoblastzellen in ihrem Zytoplasmaraum als deutlich heller erscheinen. Dieser lichtmikroskopisch erhobene Befund wird durch eine elektronenmikroskopische Übersichtsaufnahme aus diesem Blastozystenteil (Abb. 42 a) bestätigt und erweitert: Die Embryoblastzellen bilden an der Grenze zwischen Embryonalknoten und Trophoblast Hafteinrichtungen aus: So schiebt sich eine Embryoblastzelle keilförmig zwischen zwei Trophoblastzellen. Durch strukturelle Spezialbildungen ist sie basal mit der Zona pellucida und lateral mit den Nachbarzellen fest verbunden. Mikrovilli (MV) der Embryoblastzelle ziehen in den Interzellularspalt, der sich zwischen den Trophoblastzellen befindet, und verankern die Zelle hier basal. Ihr laterales Plasmalemm liegt den Trophoblastzellen auf weite Strecken glatt an. Durch Ausbildung von Membranverdickungen im Sinne primitiver desmosomaler Kontakte (DE) sind weitere "Haftpunkte" mit den Trophoblastzellen entstanden.

Während die Organelle in den Trophoblastzellen, jedenfalls in der auf der rechten Seite der Abb. 42 a abgebildeten, in normaler Verteilung - lateral und basal - auftreten, scheint in der Embryoblastzelle der relativ große Kern (N), der mit Kernhülle (NM), mit der Chromatinverteilung (Ch) im Karyoplasma und mit dem retikulär ausgebildeten Nukleolus (NC) in seinen strukturellen

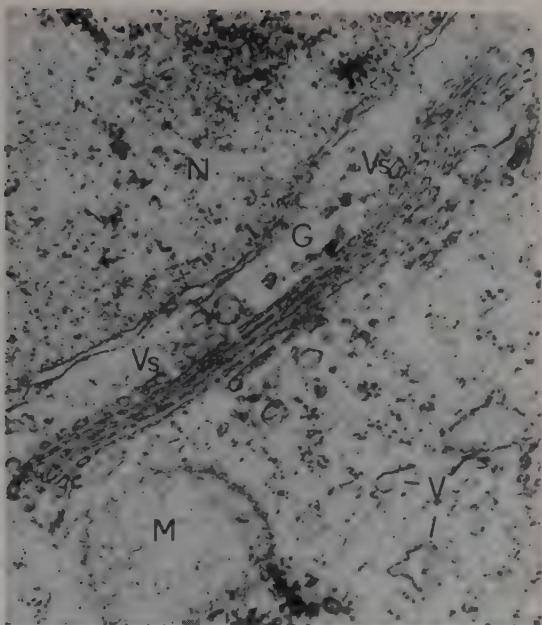
Merkmale denen der Trophoblastzellen völlig gleicht, mehr in den basalen Abschnitt verlagert zu sein. Die Organellen dieser Embryoblastzelle sind im apikalen Bereich zu finden (Abb. 42 b). Die Vakuolen des endoplasmatischen Retikulums (ER), von einer geschlossenen Membran umgeben, zeigen wie in den Trophoblastzellen Tendenzen der Zisternenverschmelzung und Membranverbindungen mit den Mitochondrien (M). Wie die Mitochondrien der Trophoblastzellen sind sie äußerlich herkömmlich geformt und haben im inneren eine erhebliche Vergrößerung ihrer Membranprofildichte entwickelt. Auch Lysosomen (Ly), auf der Abbildung in der Einzahl, und Golgi-Felder (G) (Abb. 42 c) treten wie im Trophoblast als Zytoplasmaorganelle der Embryoblastzellen hervor.

Das Grundzytoplasma in das alle diese Organelle eingebettet sind hebt sich durch eine plötzlich einsetzende massenhafte Produktion von β -Glykogen-Partikeln (Abb. 42 d und a-d) ganz deutlich gegenüber dem der Trophoblastzellen ab. Diese Glykogenpartikel haben eine durchschnittliche Größe von $400 - 500 \text{ \AA}$ und verteilen sich gleichmäßig über den ganzen Zytoplasmaraum. Kern und zytoplasmatische Organelle der Embryoblastzellen sind von Glykogen frei (Abb. 42 a, b). Die Polysomen, die ebenfalls verstreut im Grundplasma liegen, vermischen sich mit den Glykogenpartikeln und heben sich wegen des geringen Größenunterschieds ($150 \text{ \mu m}$ gegenüber $500 \text{ \mu m}$) nur sehr schwer von diesen ab.

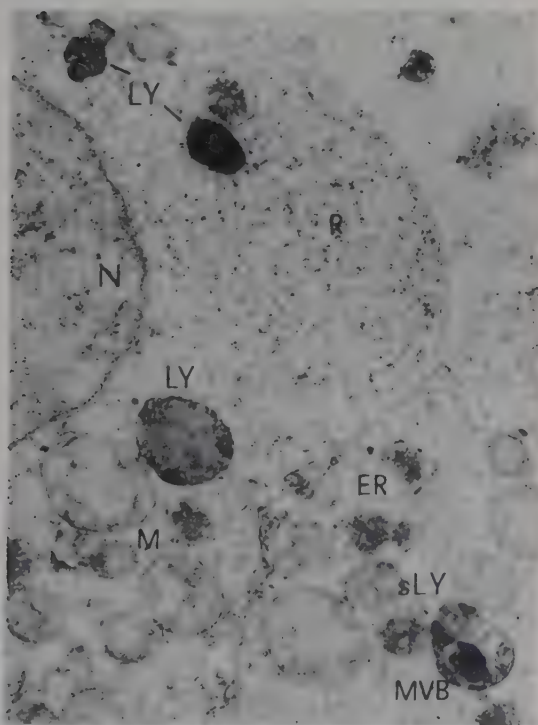
In ihrer Organellenausstattung unterscheiden sich die Embryoblastzellen nicht von den Trophoblastzellen. Deren Formwechsel, soweit er hier sichtbar gemacht wird, betrifft alle Bereiche des ganzen Keimes gleichermaßen und gleichzeitig. Allein das Plamalemm macht davon eine Ausnahme. Während der Einwanderung der Zellen in das Innere der späten Morula, während der Höhlenbildung der Blastozyste reagiert er grundsätzlich anders als das Plasmalemm der Außenzellen. Es bedingt, vielleicht auf Grund erhöhter Oberflächenspannung der Innenzellen oder

Abb. 37 b Einzelnes Golgi-Feld (G) aus einer Trophoblastzelle der Kaninchenblastozyste 80 h p.c. (Abb. 37 a, G₁). Ein Komplex von 5 - 6 glattwandigen Sacculi, die dichtgepackt gestapelt liegen, schnürt auf der Sekretionsseite (links oben im Bild, nahe der Kernmembran) die reifen Golgi-Vesikel (Vs) ab, während auf der gegenüberliegenden Regenerationsseite (unten im Bild, vom Grundplasma her) Vakuolen (V) des endoplasmatischen Retikulums angelagert werden. (N) Kern, (M) Mitochondrien
1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 48 000 x

Abb. 38 a Lysosomen (Ly) verschiedener Größe und mit verschiedenen elektronendichten Inhalten aus zwei Trophoblastzellen der Kaninchenblastozyste 80 h p.c. Unten rechts ein multivesikulärer Körper (MPV) mit elektronendichtem Inhalt, möglicherweise ein sekundäres Phagolysosom (N) Kern, (ER) Zisternen des ER, (M) Mitochondrien und (R) Ribosomen.
1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 13 800 x



37 b



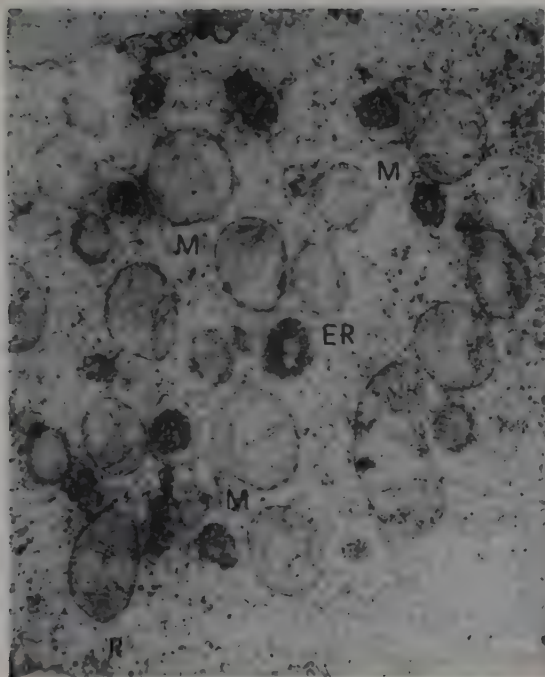
38 a

Abb. 39 a Mitochondrien (M) aus einer Trophoblastzelle der Kaninchenblastozyste 80 h p.c. Die Abbildung vermittelt einen Überblick über mögliche äußere Formen der Organelle, sowie über die Variationsbreite der Cristaebildung. (ER) Zisternen des ER, (R) Ribosomen.

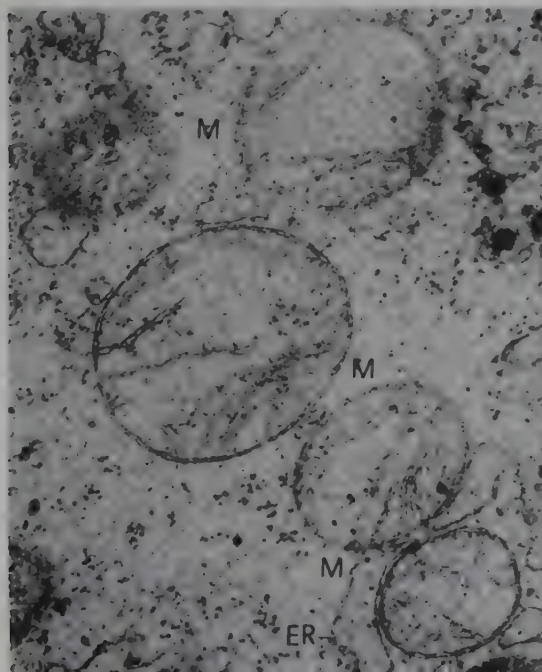
1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 13 800 x

Abb. 39 b Mitochondrien (M) aus einer Trophoblastzelle der Kaninchenblastozyste 80 h p.c. Das Organell wird außen von einer einfachen Membran umhüllt. Zusammen mit der inneren Mitochondrienmembran, von der die Cristae in die Matrix hineinziehen, umgrenzt sie eine äußere Mitochondrienmatrix bis in den Intracristaeraum. Die Transformation der Mitochondrien von einem Spezialtypus in der Morula zu einer orthodoxen Form mit der Ausbildung von Cristae im Embryonalknotenstadium muß als Ausdruck einer Funktionsänderung angesehen werden.

1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 50 000 x



39 a



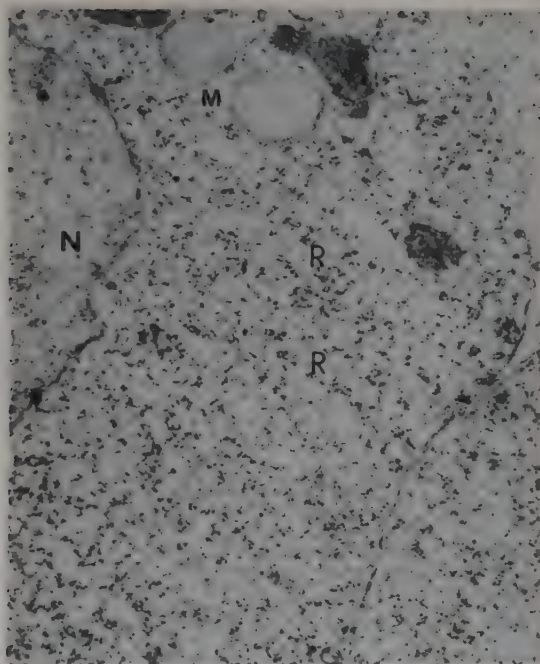
39 b

Abb. 40 a Apikaler Zellabschnitt einer Trophoblastzelle der Kaninchenblastozyste 82 h p.c. Der Zellapex, von Organellen fast frei, ist dicht angefüllt mit einer gewaltigen Menge kurzkettiger oder rosettenförmiger Polysomen (R). Hierdurch kündigt sich eine enorme Steigerung der Proteinsyntheserate oder die Bildung von neuen Proteinen an. (N) Kern, (M) Mitochondrien, (ER) Vakuolen des ER.

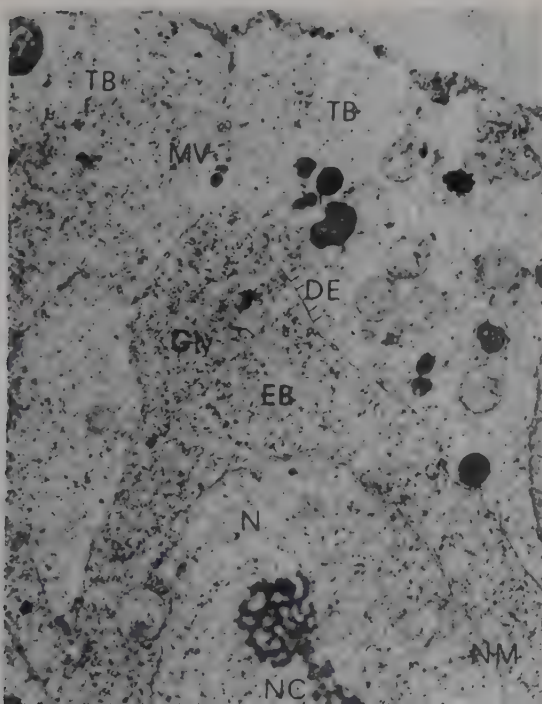
1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 13 800 x

Abb. 42 a Elektronenmikroskopische Übersichtsaufnahme der Kaninchenblastozyste 82 h p.c. Embryoblastzelle (EB) senkt sich in den Interzellularraum zwischen zwei Trophoblastzellen (TB) und bildet basal Mikrovilli (MV) lateral in primitiven Haftleisten desmosomale Kontakte (DE) aus. (N) Kern, (NC) Nukleolus, (NM) Kernhülle. Im Grundplasma große Mengen β -Glykogen-Partikel (Gly).

1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 9 200 x



40 a



42 a

infolge allgemeiner oder lokaler Änderung des Mediums der Blastozystenöhle, eine Abrundung und Verselbständigung der Innenzellen und im Stadium der späteren Blastozyste eine einseitig gerichtete Haftorganisation. Erstmals tritt dann in der Kaninchenblastozyste mit einer Entwicklungszeit von 82 Stunden post coitum ein Substanzwechsel auf, der zunächst nur die präsumptiven Embryonalzellen erfaßt und sich dort zuerst in der Bildung von β -Glykogenpartikeln offenbart. Als Reservekohlenhydrate sind sie für die weitere Keimesentwicklung relevant.

3. Ergebnisse des Kapitels VII

1. Die Kaninchenblastozyste 82 h p.c. hat sich nur geringfügig ausgedehnt. Mit der Vergrößerung der Blastozystenöhle konnte sich der Embryoblast zu einem in sich abgerundeten Keimknoten umbilden. Er liegt dem Trophoblast einseitig an. Verschiedene Embryoblastzellen bilden strukturelle "Haftapparate" aus; basal zwischen zwei Trophoblastzellen Mikrovilli und lateral mit den Zellmembranen der Trophoblastzellen primitive, desmosomale Kontaktstellen. Aufgrund der im Schnitt gezählten Zellen hat gerade das Blastozystenwachstum begonnen: Der Embryonalknoten verfügt über 22 Zellen gegenüber 10 Zellen im vorher untersuchten Stadium 72 h p.c., der Trophoblast über 21 Zellen.

2.) Bei der Analyse der Feinstruktur in den Trophoblastzellen tritt eine weitere Festigung der Zellen in der Zona hervor. Sie geschieht durch die verstärkte Ausbildung von Mikrovilliarealen. Gleichzeitig kann man als Folge davon eine erhöhte Endozytoseaktivität des basalen Plasmalemmas erschließen. Vom apikalen Plasmalemma werden Exozytosevesikel in die Blastozystenöhle abgegeben. Hierin zeigt sich die Ernährungsfunktion des Trophoblasten.

3.) Der Kern hat über die Kernhülle die massenhaft im Nukleolus produzierten Ribosomen des frühen Blastozystenstadiums in das Zytoplasma entlassen und vermittelt mehr

4.) Im Grundplasma finden sich die "löslichen" Enzyme der Glykolyse-Kette. Durch Aggregationsvorgänge kann das Plasma Filamente hervorbringen, aus denen sich die Fibrillen aufbauen. Das Protoplasma ist Grundlage für die Bildung plasmatischer Membranen, die sich aus der Matrix bilden und wieder in sie aufgehen können. Überdies ist das Grundplasma verantwortlich für zytoplasmatische Bewegungsvorgänge sowie für die Zellmotilität.

5.) Die Untersuchung der Feinstruktur des endoplasmatischen Retikulums hat nicht die im vorherigen Stadium beobachteten Anfänge eines "rauen" Endoplasmatischen Retikulums bestätigen können. Dagegen sind Tendenzen der Vakuolen-Verschmelzung zu großen Zisternen und der Verbindung mit den äußeren Mitochondrienmembranen auch in dem vorliegenden Stadium zu beobachten.

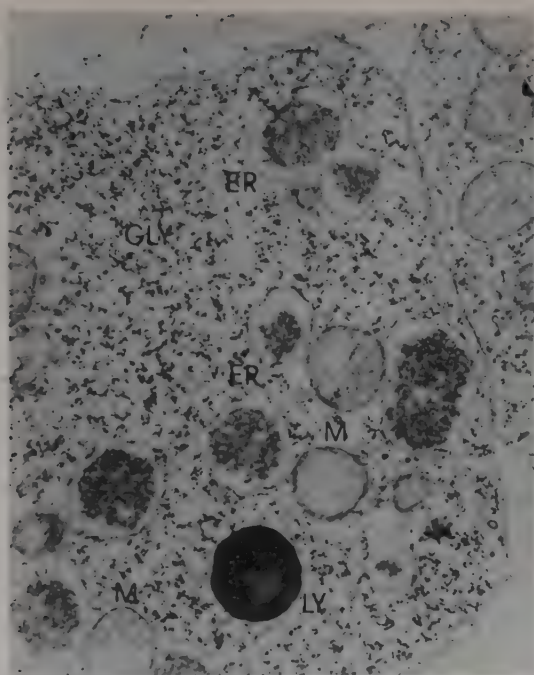
6.) Der Golgi-Apparat wird als eine netzartig verbundene Anordnung von einzelnen Golgi-Feldern angesehen, die sich schalenförmig im basalen und lateralen Kernbereich anordnen. Im apikalen Zellraum sind Golgi-Elemente nicht festzustellen. Das einzelne Feld ist polar aufgebaut. Gleichzeitig scheint es z.B. hinsichtlich der Anzahl der Sacculi strukturell reduziert zu sein. Mögliche Interaktionen mit Lysosomen und ER-Vakuolen werden aufgezeigt.

7.) In der Gruppe der Lysosomen sind zunehmend multivesikuläre Organellen zu beobachten, die neben vesikulären Strukturen elektronendichtes, vielleicht zu verdauendes Material enthalten: Sekundäre Phagolysosomen.

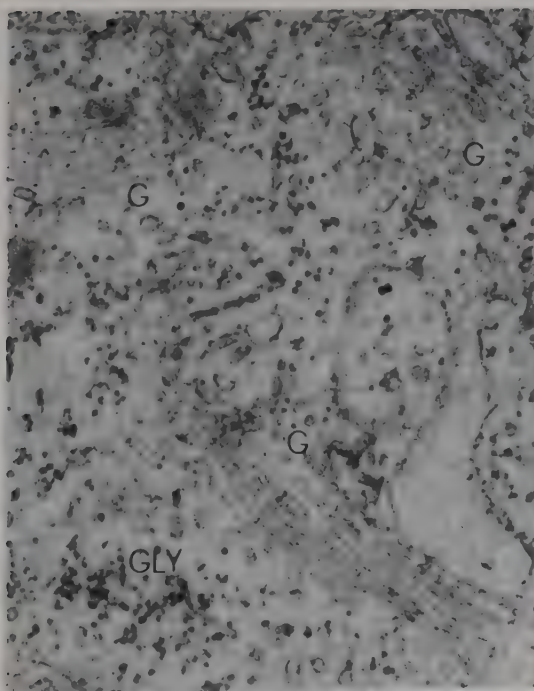
8.) Die für das Morulastadium typische Form der Mitochondrien (von mir als Zwiebelschalentyp bezeichnet) hat sich von einer speziellen (oder hochspezialisierten!) im Laufe der Keimesentwicklung zu einer orthodoxen Form umgebildet: Einfache äußere Hüllmembran und innere Mitochondrienmembran, die vermehrt plattenförmige Cristae in den Matrixraum hinein entsendet. Mitochondriale Verbindungen mit den Vakuolen des ER werfen die Frage nach eventuellen Stoffaustauschmöglichkeiten zwischen beiden Plasmakonstituenten auf.

Abb. 42 b Aus dem apikalen Bereich einer Embryoblastzelle einer Kaninchenblastozyste 80 h p.c. Zellorganellenbestand wie in einer Trophoblastzelle: (ER) Vakuolen des Endoplasmatischen Retikulums, (Ly) Lysosomen, (M) Mitochondrien. Im Grundplasma aber hier eine Menge von Glykogen-Partikeln (Gly). 1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 20 000 x

Abb. 42 c Ausschnitt aus einer Embryoblastzelle einer Kaninchenblastozyste 82 h p.c. Golgi-Felder (G) in einer Embryoblastzelle. Glykogen (Gly) ist nur im Grundplasma zu sehen, nicht in den zytoplasmatischen Organellen, z.B. nicht im Golgi-Feld (G). 1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Epon, Vergr. 56 000 x



42 b



42 c

9.) Infolge der Massenproduktion von Ribosomen im vorher untersuchten Keimstadium ist die Bildung von Polysomen vor allem in den apikalen Zellbereichen, welche von anderen Organellen praktisch frei sind, gewaltig angestiegen: Hohe Proteinsyntheserate, als Voraussetzung - auch für Änderung im Protein (Enzym-) -Muster, muß die Folge sein.

10.) Werden die an den Trophoblastzellen erhobenen Befunde mit den Verhältnissen in den Embryoblastzellen verglichen, ist eine volle Übereinstimmung festzustellen, soweit sie die Strukturänderungen im Kern und in zytoplasmatischen Organellen betreffen, s. oben. Eine substanzwechselphysiologische Neubildung im Grundplasma ist allerdings nur in den Embryoblastzellen festzustellen: Große Mengen von β -Glykogen-Partikeln treten plötzlich im Grundplasma auf. Sie sind in keinem Falle in den Zytoplasmaorganellen oder im Kernraum zu beobachten. In der Kaninchenblastozyste von 82 h p.c. ist erstmalig ein Substanzwechsel eingetreten, der zunächst nur die Embryoblastzellen betrifft und diese gegenüber den Trophoblastzellen als besonders differenziert erscheinen läßt.

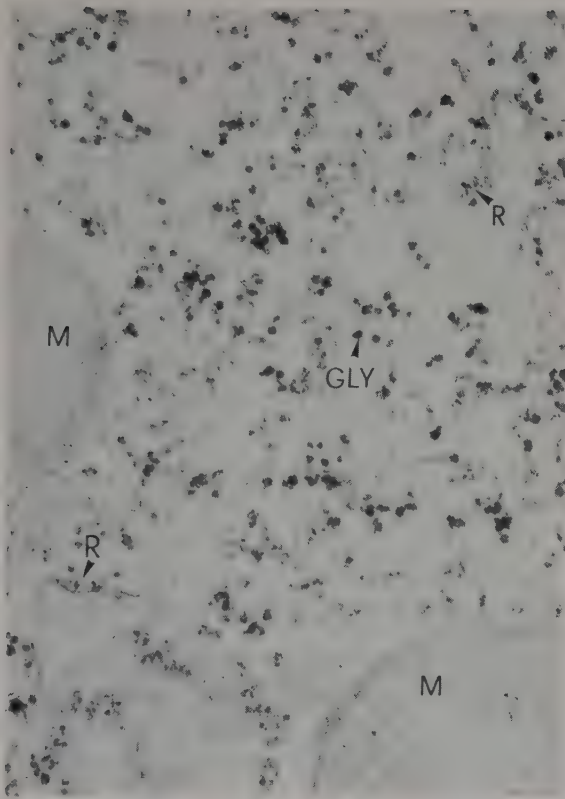


Abb. 42 d Ausschnitt aus einer Embryoblastzelle einer Kaninchenblastozyste 82 h p.c. Die β -Glykogen-Partikel haben eine durchschnittliche Größe von 400 - 500 Å (Gly $\nearrow$). Die Ribosomen (R $\nearrow$) sind wegen des geringen Größenunterschiedes nur schwer von diesen zu unterscheiden. (M) Mitochondrien. 1 h Osmium-Fix., U/Pb-Kontr., Vergr. 70 000 x

L i t e r a t u r

- ADAMS, E.C. a. HERTIG, A.T. (1964) Studies on guinea pig oocytes. I: Electron microscopic observations on the development of cytoplasmic organelles in oocytes of primordial and primary follicles. J.Cell Biol. 21, 397 - 428
- ADAMS, E.C. a. HERTIG, A.T. (1965) Annulate lamellae in human oocytes in primordial and primary follicles. J.Cell Biol. 27, 119 A
- ALTMANN, H.W. und E. GRUNDMANN (1955) Phasenkontrast-mikroskopische Untersuchungen zur Vitalstruktur tierischer Zellkerne. Beitr.path.Anat. 115, 313 - 347
- ANDRE, J. et C. ROULLIER (1957) L'ultrastructure de la membrane nucléaire des ovocytes de l'Araignée. In: Proc.Stockholm Conference 1956. New York: Academic Press
- ASSHETON, R. (1894) A re-investigation into the early stages of the development of the rabbit. Quart.J.micr.Sci. 37, 113
- BACA, M. and L. ZAMBONI (1967) The fine structure of human follicular oocytes. J.Ultrastruct.Res. 19, 364-381
- BAKER, T.G. and L.L. FRANCHI (1967) The fine structure of oogonia and oocytes in human ovaries. J.Cell Sci. 2, 213 - 224
- BAKER, T.G. and L.L. FRANCHI (1972) The fine structure of oogonia and oocytes in the rhesus monkey (Maccaca mulatta) Z.Zellforsch. 126, 53 - 74

- DAUD, C.A. (1959) Ultrastructure et fonction de la membrane nucléaire. In: J.A. THOMAS, ed.: Problemes d'ultrastructures et de fonctions nucléaires. Paris, Masson et Cie (1959) 1, in A. LIMA-DE-FARIA: B.J. STEVENS a. J. ANDRE: The nuclear envelope, p. 869
- BENEDEN, E. van (1880) Recherches sur l'embryologie des mammifères: Le formation des feuilletts chez le lapin. Arch.d.Biol. 1, 137
- BENNETT, H.S. (1963) Morphological aspects of extra-cellular polysaccharides. J.HistochemCytochem. 11, 14 (1963)
- BERNHARD, W. and N. GRANBOULAN (1968) Electron microscopy of the nucleolus in vertebrate cells. In: The Nucleus. Ed. A.J. DALTON and F. HAGUENAU 81 - 149 Academic Press, New York and London 1968
- BLANCHETTE, E.J. (1961) A study of the fine structure of the rabbit primary oocyte. J.Ultrastruct.Res. 5, 349 - 363
- BLANDAU, R.J. (1961) In "Sex and internal Secretions", vol. II, p, 797 - 882. Ed. W.C. YOUNG: WILLIAMS a. WILKINS Co., Baltimore
- BLANDAU, R.J. (1967) Procs. Symp. Oviduct, Pullman University, Washington. Eds. E.S.E. HAFEZ a. R.J. BLANDAU
- CALLAN, H.G. and S.G. TOMLIN (1950) Experimental studies on amphibian oocyte nuclei. I. Investigation of the structure of the nuclear membrane by means of the electron microscope. Proc. R. Soc. B. 137, 367- 378

- CASPERSSON, T. (1950) Cell growth and cell function.
W.W. NORTON, New York
- CAULFIELD, J.B. (1957) Effects of varying the vehicle
for OsO_4 in tissue fixation.
J.Biophys.Biochem.Cyt. 3, 827 - 830
- CUNNINGHAM, W.P., D.J. MORRE and H.H. MOLLENHAUER (1966)
Structure of isolated plant golgi-apparatus revealed
by negativ staining.
J.Cell Biol. 23, 169 - 179
- DALCQ, A.M. (1951) New descriptive and experimental data
concerning the mammalian egg, principally of the rat.
I. Proc.kon.ned.Akad.Wet. C 54, 351
- DENKER, H.W. (1970 a) Topochemie hochmolekularer Kohlen-
hydratsubstanzen in Frühentwicklung und Implantation
des Kaninchens. I. Allgemeine Lokalisierung und
Charakterisierung hochmolekularer Kohlenhydratsub-
stanzen in frühen Embryonalstadien.
Zool.Jb.Physiol. 75, 141
- DENKER, H.W. (1970 b) Topochemie hochmolekularer Kohlen-
hydratsubstanzen in Frühentwicklung und Implantation
des Kaninchen. II. Beiträge zu entwicklungsphysio-
logischen Fragestellungen.
Zool.Jb.Physiol. 75, 246
- ENDERS, A.C. and S.J. SCHLAFKE (1967 a) A morphological
analysis of the early implantation stages in the rat.
Am.J.Anat. 120, 1 - 12
- ENDERS, A.G. and S.J. SCHLAFKE (1967 b) A morphological
analysis of the early implantation stages in the rat.
Am.J.Anat. 120, 185 - 226
- FARQUHAR, M.G. and G.E. PALADE (1963) Junctional com-
plexes in various epithelia.
J.Cell Biol. 17, 375 - 412

- FAWCETT, D.W. (1966) The Cell. Its Organelles and Inclusions.
Philadelphia: Saunders
- FRANCHI, L.L. (1960) Electron microscopy of oocyte-follicule relationship in the rat ovary.
J.Biophys.Biochem.Cytol. 7, 397 - 398
- FRANKE, W.W. (1966) Isolated nuclear membrans.
J.Cell Biol. 31, 619 - 623
- FRANKE, W.W. and U. SCHEER (1970 a) The ultrastructure of the nuclear envelope of amphibian oocytes: A re-investigation. I. The mature oocyte.
J.Ultrastruct.Res. 30, 288 - 316
- FRANKE, W.W. and U. SCHEER (1970 b) The ultrastructure of the nuclear envelope of amphibian oocytes: A re-investigation. II. The immature oocyte and dynamic aspects.
J.Ul.Re. 30, 317 - 327
- FRIEDRICH, F., M. PAVELKA, R. HAGER, H. GAUCIG und E. GOLOB (1971) Licht- und elektronenmikroskopische Befunde an menschlichen Eizellen bei einem Fall mit polyzystischen Ovarien.
Arch.Gynäk. 209, 427 - 439
- GALL, G.J. (1967) Octagonal nuclear pores.
J.Cell Biol. 32, 391 - 399
- GEETER, L. DE (1954) Etude sur la structur de l'oeuf vierge et les premiers stades du développement chez le Cobaye et le Lapin.
Arch.Biol. (Liège) 65, 363
- GRASSÉ, P.P. (1957) Ultrastructure, polarité et reproduction de l'appareil de Golgi.
C.R.Acad.Sci. (Paris) 245, 1278 - 1281
- GREGORY, P.W. (1930) Early embryology of the rabbit.
Carnegie Inst.Wash.Publ.No. 407
Contrib.Embryol. 21, 141 (1930)

- GULYAS, B.J. (1972) The rabbit zygote. II. The fate of annulate lamellae during first cleavage.
Z.Zellforsch. 133, 187 - 200
- HASTINGS, R.A. and A.C. ENDERS (1975) Functional complexes in the preimplantation rabbit embryo.
Anat.Rec. 181, 17 - 33
- HADEK, R. (1963) Submicroscopic study on the cortical granules in the rabbit ovum.
J.Ultrastruct.Res. 10, 170 - 175
- HERTIG, A.T. (1968) Primary human oocyte: Some observations on the fine structure of Balbiani's vitelline body and the origin of the annulate lamellae.
Am.J.Anat. 122, 107 - 138
- HERTIG, A.T. and E.C. ADAMS (1967) Studies on the human oocyte and its follicle. I. Ultrastructural and histochemical observations on the primordial follicle stage.
J.Cell Biol. 34, 647 - 675
- HESSELD AHL, H. (1971) Ultrastructure of early cleavage stages and preimplantation in the rabbit.
Z.Anat.Entwicklg.-Gesch. 135, 139 - 155
- HILLEMAN, W.N. (1967) Ultrastructural studies of preimplantation mouse embryos.
J.Cell Biol. 35, 113 A
- HUMPHREY, K.W. (1969) Mechanism concerned in ovum transport. In: Schering Symposium on mechanisms involved in conception Berlin 1969
Pergamon Press Vieweg
- * JONES-SEATON, A. (1950) Etude de l'organisation cytoplasmique de l'oeuf des Rongeurs, principalement quant à la basophilic ribonucléique.
Arch.Biol. (Liège) 61, 291
-
- * IZQUIERDO, L. and D.J. VIAL siehe ADDENDUM!

- KARNOVSKY, M.J. (1961) Simple methode for "staining with lead" at high pH in electron microscopy.
J.Biophys.Biochem.Cytol. 11, 729 - 732
- KARNOVSKY, M.J. (1965) Vesicular transport of exogenous peroxidase capillary endothelium into the T system of muscle.
J.Cell Biol. 27, 49 A - 50 A
- KIRCHNER, C. und K.A. SEITZ (1972) Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Blastozyste des Kaninchens vor der Implantation in bezug auf ihre Wechselbeziehung zur uterinen Umgebung.
Roux Archiv 170, 221 - 233
- KOMNICK, H., W. STOCKEM und K.E. WOHLFARTH-BOTTERMANN (1971) Ursachen, Begleitphänomene und Steuerung zellulärer Bewegungserscheinungen.
Fortschr.d.Zoologie 21, Heft 1 (1971)
- KRAUSKOPF, Christ. (1967) Die protoplasmatischen Systeme in Oozyte und 2-Zellen-Stadium des Kanincheneies nach elektronenmikroskopischen Untersuchungen.
Diss., Marburg/Lahn 1967
- KRAUSKOPF, Christ. (1968 a) Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Struktur der Oozyte und des 2-Zellen-Stadiums beim Kaninchen. I. Oozyte.
Z.Zellforsch. 92, 275 - 295
- KRAUSKOPF, Christ. (1968 b) Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Struktur der Oozyte und des 2-Zellen-Stadiums beim Kaninchen. II. Blastomeren
Z.Zellforsch. 92, 296 - 312
- KRSTIĆ, R.V. (1976) Ultrastruktur der Säugetierzelle.
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1976

- LONGO, F.J. and E. ANDERSON (1969) Cytological events leading to the formation of the two-cell stage in the rabbit: Association of the maternally and paternally derived genomes.
J.Ultrastruct.Res. 29, 86 - 118
- LYNN, J.A. (1965) Rapid toluidine blue staining of Epon-embedded and mounted adjacent sections.
Amer.J.Clin.Path. 44, 57 - 58
- MASTROIANNI, L. and C. NORIEGA (1970) Observations on human ova and the fertilization process.
Am.J.Obst.Gynec. 107, 682 - 690
- MERCHANT, H. (1970) Ultrastructural changes in preimplantation rabbit embryos.
Cytologia: Int.J.Cytolog. 35, 319 - 334
- MERKER, H.J. (1961) Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Bildung der Zona pellucida in den Follikeln des Kaninchenovus.
Z.Zellforsch. 54, 677 - 688
- MERKER, H.J. und E. KÖHLER (1967) Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Ei der Ratte während der Befruchtung.
Z.Zellforsch. 86, 603 - 615
- MILLONIG, G. (1961) A modified procedure for lead staining of thin sections.
J.Biophys.Biochem.Cyt. 11, 736, 739
- MIYAI, K. and J.W. STEINER (1967) Fine structure of interphase liver cell nuclei in acute ethionine intoxication. Lab.Invest. 16, 677 - 692
- MOLLENHAUER, H.H. and J.H. LEECH (1961) A function of the Golgi apparatus in outer rootcap cells.
J.Ultrastr. Res. 5, 193 - 200

- MOOR, H. and K. MÜHLETHALER (1963) Fine structure in frozen-etched yeast cells.
J.Cell Biol. 17, 609
- NEWMAN, B., E. BORYSKO and M. SWEROLOW (1949) Ultra-microtomy by a new method.
J.Res.Nat.Bureau Stand 43, 183
zitiert aus: G. GEYER: Ultrahistochemie, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1969
- ODOR, D.L. (1960) Electron microscopic studies on ovarian oocytes and unfertilized tubal ova in the rat.
J.Biophys.Biochem.Cytol. 7, 567 - 574
- PALADE, G.E. (1952) A study of fixation for electron microscopy.
J.Exp.Med. 95, 285 - 298
- PEACHEY, L.D. (1964) Electron microscopic observation on the accumulation of divalent cations in intramitochondrial granules.
J.Cell Biol. 20, 95 - 108
- POLICARD, A., M. BESSIS and M. BRICKA (1953) La fixation des cellules isolées observée au contraste de phase et au microscope électronique. II. Etude sur la congélation - dessiccation.
Bull.Micr.Appl. 3, 102 - 109 aus G.GEYER: Ultrahistochemie p. 169
- REYNOLDS, E.S. (1963) The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy.
J.Cell Biol. 17, 208 - 212
- RYTER, A. et E. KELLENBERGER (1958) L'inclusion au polyester pour l'ultramicrotomie.
J.Ultrastruct.Res. 2, 200 - 214
- SABATINI, D.D., K. BENSCH and R.J. BARNETT (1963) Cytochemistry and electron microscopy. The preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation.
J.Cell Biol. 17, 19 - 58

- SASSEN, M.M.A. (1964) Fine structure of *Petunia* pollen grain und pollen tube.
Acta Bot.Neerl. 13, 175 - 181
- SEIDEL, F. (1956) Nachweis eines Zentrums zur Bildung der Keimscheibe im Säugetierei.
Naturwissenschaften 43, 306 - 307
- SEIDEL, F. (1960) Die Entwicklungsfähigkeiten isolierter Furchungszellen aus dem Ei des Kaninchens (*Oryctolagus cuniculus*)
Wilhelm Roux'Arch. Entwickl.-Mech. Org. 152, 43-130
- SEIDEL, F. (1969) Entwicklungspotenzen des frühen Säugetierkeims.
Arbeitsgemeinschaft für Forschung des Landes Nordrhein-Westfalen, Heft 193, Westdeutscher Verlag
Köln u. Opladen
- **
- SIEVERS, A. (1965) Elektronenmikroskopische Untersuchung zur geotropischen Reaktion. I. Über die Besonderheit im Feinbau der Rhizoide von *Chera foetida*
Z.Pflanzenphysiol. 53, 193 - 213
- SITTE, P. (1971) I. Morphologie der Zelle. Probleme der Zellteilung und -differenzierung. Gewebebildung. Allgemeine Mikromorphologie der Zelle.
In Metzner, H. edit.: Die Zelle, Struktur und Funktion, 2. Auflage 1971
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart
- SOTELO, J.R. (1959) An electron microscope study on the cytoplasmic and nuclear components of rat primary oocytes.
Z.Zellforsch. 50, 749 - 765
- SOTELO, J.R. and PORTER, K.R. (1959) An electron microscope study of the rat ovum.
J.Biophys.Biochem.Cytol. 5, 327 - 342

**

Seidel, F. (1975) siehe ADDENDUM

- STEER, H.W. (1970 a) The ultrastructure of the extra-embryonic region of the preimplanted rabbit blastocyst before trophoblastic knob formation.
J.Anat. 106, 2., 263 - 271
- STEER, H.W. (1970 b) The trophoblastic knobs of the preimplanted rabbit blastocyst: a light and electron microscopic study.
J.Anat. 107, 2., 315 - 325
- STEER, H.W. (1971) Implantation of the rabbit blastocyst: the adhesive phase of implantation.
J.Anat. 109, 2., 215 - 227
- STEFANINI, M., OURA, C. and L. ZAMBONI (1969) Ultrastructure of fertilization in the mouse. II. Penetration of sperm into the ovum.
J.Submicroscop.Cyt. 1, 1 - 23
- STEGNER, H.E. und H. WARTENBERG (1961) Elektronenmikroskopische und histotopochemische Befunde an menschlichen Eizellen.
Arch.Gynäk. 196, 23 - 34
- STEGNER, H.E. (1967) Die elektronenmikroskopische Struktur der Eizelle.
Ergebnisse der Anatomie und Entwicklungsgeschichte
Band 39 Heft 6
- STEIN, O. and Y. STEIN (1967) Lipid synthesis, intracellular transport, storage, and secretion. I. Electron microscopic radioautographic study of liver after injection of triated palmitate or glycerol in fasted and ethanol-treated rats.
J.Cell Biol. 33, 319 - 339
- SZOLLOSI, D. (1965) Extrusion of nucleoli from pronuclei of the rat.
J.Cell Biol. 25, 545 - 562

- SZOLLOSI, D.G. and H. RIS (1961) Observations on sperm penetration in the rat.
J.Biophys.Biochem.Cyt. 10, 275 - 283
- THOENES, W. (1960) Giemsa-Färbung an Geweben nach Einbettung in Polyester (Vestopal) und Methacrylat.
Z.wiss.Mikroskopie 64, 406 - 413
- THOENES, W., E. GOSSRAU und H.W. ALTMANN (1972) Untersuchungen zum Feinbau des Nukleolus tierischer Somazellen aufgrund von Modellstudien.
Cytobiologie 6, 150 - 162
- TRUMP, B.F., E.A. SMUCKLER and E.P. BENDITT (1961) A method for staining epoxy sections for light microscopy.
J.Ultrastruct.Res. 5, 343 - 348
- VIVIER, E (1967) Observations ultrastructurales sur l'enveloppe nucléaire et ses "pores" chez des sporozoaires.
J.Microscopie 6, 371
- WARTENBERG, H. und H.E. STEGNER (1960) Über die elektronenmikroskopische Feinstruktur des menschlichen Ovarialeles.
Z.Zellforsch. 52, 450 - 474
- WATSON, M.L. (1958 a) Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals.
J.Biophys.Biochem.Cyt. 4, 475 - 478
- WATSON, M.L. (1958 b) Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. II. Applications of solutions containing lead and barium.
J.Biophys.Biochem.Cyt. 4, 727 - 729
- WATSON, M.L. (1959 a) The nuclear envelope. Its structure and relation to cytoplasmic membranes.
Biophys.Biochem.Cyt. 1, 257 - 270

- WATSON, M.L. (1959 b) Further observations on the nuclear envelope of the animal cell.
J.Biophys.Biochem.Cyt. 6, 147
- WEAKLEY, B.S. (1966) Electron microscopy of the oocyte and granulosa cells in the developing ovarian follicles of the golden hamster.
J.Anat. 100, 503 - 534
- WEAKLEY, B.S. (1969) Annulate lamellae in the oocyte of the golden hamster.
Z.Zellforsch. 96, 229 - 237
- WOHLFAHRT-BOTTERMANN, K.E. (1969) Cell structures and their significance for ameboid movement.
Int.Rev.Cyt. 16, 61 - 131
- WOHLFAHRT-BOTTERMENN, K.E. (1972) Kap. V: Grundplasma p. 123 - 133 in Edit. G.C. HIRSCH; H. RUSKA u. P. SITTE: Grundlagen der Cytologie.
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1973
- WOOD, R.L. and J.H. LUFT (1965) The influence of buffer systems on fixation with osmium tetroxide.
J.Ultrastruct.Res. 12, 22 - 45
- YUNGHANS et al. (1970) Exptl. Molec. Pathol. 12, 36
aus: NOLL, F.: Golgi-Apparat
in H. BIELKA edit.: Molekulare Biologie der Zelle,
Gustav Fischer Verlag Stuttgart 1973
- ZAMBONI, L. and L. MASTROIANNI (1966 a) Electron microscopic studies on rabbit ova. I. The follicular oocyte.
J.Ultrastruct.Res. 14, 95 - 117
- ZAMBONI, L. and L. MASTROIANNI (1966 b) Electron microscopic studies on the rabbit ova. II. The penetrated tubal ovum.
J.Ultrastruct.Res. 14, 118 - 132

- ZAMBONI, L., D.R. MISHELL, J.H. BELL and M. BACA (1966)
Fine structure of the human ovum in the pronuclear
stage.
J.Cell Biol. 30, 579 - 600
- ZAMBONI, L., R.S. THOMPSON and D.M SMITH (1972) Fine
morphology of human oocyte maturation in Vitro.
Biol.Reproduct. 7, 425 - 457
-

* IZQUIERDO, L. and D.J. VIAL (1962) Electron microscope
observations on the early development of the rat.
Z.Zellforsch. 56, 157 - 179

** Seidel, Friderich (1975): Entwicklungsphysiologie
der Tiere II Bd. 2601
Sammlung Göschen, Walter de Gruyter

Lebensdaten

Norbert P A U L , geboren am 6.5.1932 in Erfurtshausen.
Vater: Christoph Paul, Volksschullehrer; Mutter: Maria
Rosine Paul, geb. Riehl.

Volksschule in Erfurtshausen/Kr. Marburg von 1939 - 1943.

Höhere Schulen: Gymnasium-Philippinum in Marburg von
1943 - 1945. Progymnasium in Amöneburg von 1946 - 1952.
Rabanus-Maurus-Gymnasium in Fulda von 1952 - 1955 mit
Reifezeugnis vom 1.3.1955.

Studiengang: Immatrikulation an der Philippsuniversität
in Marburg zum Sommer-Semester 1955 in der Philosophischen
Fakultät. Fächer: Germanistik und Biologie vom SS 1955 -
SS 1957. Studium an der Maximilian-Universität in München,
Naturwissenschaftliche Fakultät: Biologie vom WS 1957/58
- SS 1958. Vom WS 1958/59 - SS 1965 immatrikuliert an
der philosophischen, später der naturwissenschaftlichen
Fakultät der Philipps-Universität in Marburg. Nach
Erlernen grundsätzlicher elektronenmikroskopischer
Präparations- und Untersuchungsmethoden 1963 im Institut
für Physikalische Biologie und Elektronenmikroskopie un-
ter Leitung von Prof. Dr. W. Vogell wurde ich betraut
mit elektronenmikroskopischen Untersuchungen am Säuger-
keim von Prof. Dr. F. Seidel, Direktor des Zoologischen
Institutes Marburg.

Aus Teilen dieser EM-Untersuchungen stammen die Ergeb-
nisse, die der vorliegenden Arbeit zu Grunde gelegt sind.

Schriftenverzeichnis

- Thoenes, W. und Paul, N.: Glykokalyx-Studien am Säu-
gernephron (mit Hilfe von Eisen-
kolloid und Peroxydase).
Vortrag auf der 15. Tagung der
Deutschen Gesellschaft für Elek-
tronenmikroskopie E.V. (1971)
Kurzfassung des Autorenreferates
in "Mikroskopie" (Wien)
- Thoenes, W. und Paul, N. (1972): Glykokalyx-Differenzierung
im Nephron der Rattenniere.
Die Naturwissenschaften, 12,
651-652, 1972
- Thoenes, W., K.H. Langer und N. Paul (1972): In-vivo-Mar-
kierung der Glykokalyx des Säu-
gernephrons mit Meerrettich-
paroxydase
Cytobiologie, 6, Heft 4,
487-491, 1972
- Langer, K.H., N. Paul und W. Thoenes (1973): Microinjection
of tracer protein into the urinary
space of the rat, renal glomerulus
in vivo. A new method for electron
microscope study of the glomerular
filtration apparatus.
Cytobiologie, 7, Nr.3,
268-271, 1973

Langer, K.H., N. Paul und W. Thoenes (1974): Demonstration
of Pericellular channels in Glo-
merular Podocytes in Aminonucle-
oxide Nephrosis.

Virchows Arch. B Cell Path., 17,
91-96, 1974

Langer, K.H., Paul N. und W. Thoenes (1975): The ultra-
structural Basis of Permeability
to Proteins in Normal and Nephrotic
Glomeruli.

Contr. Nephrol., Vol 1,
92-95 (Karger, Basel 1975)

Pfab, R., Schachtschabel, D.O., Paul, N. und Hess, F. (1976):
Elektronenmikroskopische Unter-
suchungen zur Pinozytoseaktivität
von Ehrlich-Ascitestumorzellen in
Monolayer-Kultur.

Strahlentherapie 151,
470-479 Nr. 5 (1976)

Pfab, R., Schachtschabel, D.O., Paul, N. und F. Hess:
Hemmung der Pinozytose und der
Aktivität von saurer Phosphatase
durch Serummangel in Kulturmedien
von Ehrlich - Ascites - Tumor-
zellen (im Druck)

